Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin

Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und
aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik

Direktor: Prof. Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

MÖGLICHKEITEN DER BEEINFLUSSBARKEIT DER LAGERUNGS-FÄHIGKEIT VON KONSERVENBLUT DURCH KALIUM-MAGNESIUM-ASPARTAT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ines Özfirat-Schmidt geb. Schmidt
aus Backnang

1979

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionsmedizin

Direktor: Professor Dr. R. Schorer
und
aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik

Direktor: Prof. Dr. L. Koslowski
der Universität Tübingen

MÖGLICHKEITEN DER BEEINFLUSSBARKEIT DER LAGERUNGS-FÄHIGKEIT VON KONSERVENBLUT DURCH KALIUM-MAGNESIUM-ASPARTAT

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin
der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ines Özfirat-Schmidt geb. Schmidt
aus Backnang

1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Prof.Dr.Dr.N.Schwenzer

Berichterstatter: Prof.Dr.W.Heller

Privatdozent Dr.H.Junger

Prof.Dr.R.Schorer

Herrn Professor Dr. rer. nat. W. Heller möchte ich an dieser Stelle für sein freundliches Entgegenkommen und seine hilfreiche Betreuung bei dieser Arbeit danken.

Meinen lieben Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG

Historische Grundlagen ---------- 3
ACD-Lösung und Alternativen ---------- 4
Kalium-Magnesium-Aspartat ---------- 5

MATERIAL UND METHODIK

Allgemeine Grundlagen ----------1o
Enzymatische Bestimmung der Glucose ----------13
Enzymatische Bestimmung von FDP, DAP und GAP---15

STATISTIK ---------- 18

ERGEBNISSE

1.) Glucose ---------- 19
2.) Fructose-1,6-Diphosphat (FDP) ---------- 22
3.) Dihydroxyacetonphosphat (DAP) ---------- 23
4.) pH-Wert ---------- 25
5.) Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hk) ------ 28
6.) Elektrolyte ---------- 31

DISKUSSION

a) Kohlenhydratstoffwechsel ---------- 35
b) pH-Wert ---------- 44
c) Hb und Hk (Zellintegrität)---------- 45
d) Elektrolythaushalt ---------- 46

ZUSAMMENFASSUNG ---------- 5o

TABELLARISCHER ANHANG ---------- S.52

LITERATURVERZEICHNIS ---------- S.63

LEBENSLAUF ---------- S.76

EINLEITUNG

Historische Grundlagen:

Die ersten Versuche einer Blutübertragung, zunächst direkt vom Tier zum Menschen, datieren von der Mitte des 17.Jahrhunderts her. Seitdem sind laufend Bemühungen erfolgt, eine ideale Blutübertragungsmöglichkeit zu finden.

Auch die damaligen Direktübertragungen waren oftmals durch Gerinnungsstörungen behindert, sodaß sofort die Flüssigerhaltung des Blutes als erste Grundbedingung der Transfusion augenfällig wurde. Nun war dafür schon um 1800 in der Defibrinierung ein Mittel bekannt, das allerdings auch gleich die Diskussion um die zweite Grundbedingung für das Transfundat, nämlich seine absolute Unschädlichkeit für den Empfänger, entfachte. Tatsächlich zeigte sich auch, daß das defibrinierte Blut toxische Wirkungen auf den Empfängerorganismus ausübte, sodaß weitere Versuche dazu führten, das Blut mit Hilfe von Zusatzstoffen flüssig zu halten.

Dieser Weg führte vom zunächst verwendeten Glaubersalz über verschiedene andere Stoffe schließlich 1915 zum Einsatz des Natriumcitrates (87). Das stellte ein fundamentales Ereignis dar, insofern, als das Na-Citrat sich nicht nur als praktisch unschädlich erwies (37), sondern darüberhinaus eine längere Aufbewahrung des Blutes erlaubte und damit durch die Ermöglichung der Blutkonservierung die Voraussetzung zur indirekten Blutübertragung schuf.

Durch Glucosezusatz und Ansäuerung mit Zitronensäure gelang es, die Aufbewahrungsfähigkeit der roten Blutzellen noch wesentlich zu verlängern, sodaß 1919 schließlich im kombinierten Acid-Citrate-Dextrose-Stabilisator nach

Rous und Turner die sogenannte ACD-Lösung zur Verfügung stand, die bis heute im Transfusionswesen generell verwendet wird.

ACD-Lösung und Alternativen:

Mit dem ACD-Stabilisator läßt sich bei 4°C aufbewahrtes Blut bis zu 21 Tagen konservieren, ohne daß eine wesentliche Einbuße an Erythrozyten zu verzeichnen ist (29,38, 39,7o). Die Überlebensrate der Erythrozyten nach Transfusion beträgt dabei wenigstens 7o-75%, sinkt jedoch nach längerer Lagerungsdauer rapide ab (27,71). Dennoch wird die ACD-Lösung nicht als "idealer Stabilisator"(87) empfunden. Das zeigt sich deutlich darin, daß die Suche nach einem Solchen bis heute nicht zur Ruhe gekommen ist.

Vor allem wird dem Citrat die Bindung des ionisierten Calziums angelastet, die besonders bei großen Transfusionsmengen, wie sie z.B. bei Herzoperationen anfallen, ins Gewicht fällt. Außerdem machte sich mit der Zeit auch ein Mißtrauen gegenüber der angeblichen Atoxizität des Citrates für den Empfänger breit (5,37). Es seien hier einige Stoffe angeführt, die aus diesen Gründen in Erprobung standen, oder noch stehen:
Das Heparin, als physiologisch vorkommender gerinnungshemmender Stoff, war von großem Interesse; da es jedoch aus noch ungeklärten Gründen zur beschleunigten Hämolyse führt, erwies es sich für die Blutkonservierung als nicht geeignet.
Ebenfalls zur Hämolyse führen die Ionenaustauscher, die zudem auch Calzium binden, und deren Vorteil, ein Zusatzfreies Blut bereitzustellen, durch einen großen apparativen Aufwand geschmälert wird.
Erythrozytenaufschwemmungen in Dextran vermeiden zwar die obigen Nachteile, können aber bereits in kleineren Mengen

(ab 8oo ml) zu Hämostasestörungen führen.
Tiefkühlung und Gefrierung haben sich zwar als im Prinzip optimale Lösung und auch grundsätzlich mögliches Verfahren erwiesen; es hat sich jedoch hier gezeigt, daß auch mangelnde Praktikabilität durch zu große Kompliziertheit des Verfahrens ein Grund ist, daß sich in der Routine nicht durchsetzen kann, was an sich einen idealen Weg darzustellen scheint (87).
Die Tatsache, daß 1977 allein in Baden-Württemberg wöchentlich nahezu 4ooo Blutkonserven benötigt wurden, rechtfertigt das fortwährende Bestreben, die bekannte ACD-Lösung zu modifizieren und dadurch eine weitere Verzögerung der natürlichen Denaturierungsvorgänge des aufbewahrten Blutes zu erreichen.
Mancherorts wird eine sogen. CPD-Lösung (Citrat-Phosphat-Dextrose) als, allerdings nur gleichwertiger, Ersatz für ACD verwendet (57,74). Eine ACD-IA (Inosin-Adenin) Stabilisatorlösung scheint dem einfachen ACD überlegen, befindet sich jedoch immer noch im Stadium der klinischen Erprobung.(74,79,81).
Im Forschungslabor der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen wird nun seit einiger Zeit versucht, die Stabilisatoreigenschaften der ACD-Lösung durch Zusätze von Aspartaten zu verbessern.

Kalium-Magnesium-Aspartat:

Schon früh wurde die große Bedeutung der zu 98% intrazellulär lokalisierten Kalium- und Magnesiumionen für die gesamten Stoffwechselvorgänge erkannt und demzufolge versucht, einem posttraumatisch auftretenden Mangel derselben durch Infusion dieser Ionen, meist als Chlorid oder Lactat, entgegenzutreten. Es zeigte sich jedoch, bald, daß sich durch diese Infusionen zwar der Serumspiegel normalisieren ließ, die intrazellulären Ionen-

konzentrationen hingegen nicht zu erhöhen waren.(58,78).

Ein durch postoperativen Kaliumefflux aus der Zelle mit unmittelbar nachfolgender renaler Elimination verursachter Kaliummangel verhindert zum einen den reibungslosen Ablauf der anaeroben Glykolyse und stört zum anderen die Funktion des Citratzyklus (58), was beides den ATP-Gewinn herabsetzt, womit dem Organismus notwendige Energie verloren geht.

Auch der Magnesium-Mangel wirkt sich negativ auf den ATP-Haushalt aus und zwar wiederum über die Glykolyserate. Das erniedrigte Magnesium führt nämlich sowohl bei der Hexokinase- als auch bei der Phosphofructokinase-Reaktion zu verminderter Aktivität, wie ja Mg aus vielen Untersuchungen (1o,25,41,5o,67,84) generell als Enzymaktivator bekannt ist. Zudem kann ein extremer Mg-Mangel auch zu allgemeinmedizinischen Veränderungen wie Durchfällen, Gefäßspasmen und tonisch-klonischen Krämpfen führen (58,82).

Von der Asparaginsäure ist seit den Untersuchungen Niepers (1958) bekannt, daß sie sich günstig auf Stoffwechselstörungen, wie sie z.B. beim Myokardinfarkt oder als Begleiterscheinung maligner Erkrankungen, im System Pyruvat-Lactat und α-Ketoglutarat, auftreten, auswirkt. Die Asparaginsäure gehört zu den glucoplastischen Aminosäuren, welche in den Zellen angereichert werden, und kann so in Form des Chelates als Kationen-Carrier durch die Zellmembran dienen. Tierexperimentelle Versuche zeigten, daß unter Verwendung von Kalium-Magnesium-Aspartat tatsächlich vermehrt Kalium in die Zellen eingeschleust werden konnte (2o,59). Auch für den menschlichen Organismus wurde dies nachgewiesen. Einmal stellten Sebening und Struck (8o) in einer vergleichenden Arbeit über die Kaliumsubstitution mit K-Lactat oder K-Aspartat bei Ope-

rationen mit extrakorporalem Kreislauf fest, daß der postoperative Kaliumabfall bei Verwendung von K-Aspartat durch eine signifikant höhere zelluläre Kaliumretention deutlich geringer war. Zum anderen konnte Greff, der sich mit dem Zusammenhang Kalium - Digitalistoxizität beschäftigte (3o), sowie Rittmeyer in seinenUntersuchungen zum Elektrolythaushalt nach schweren Verbrennungen (7oa) bestätigen, daß die K-Elimination durch K-Mg-Aspartat vermindert wird.
Obzwar der genaue Wirkungsmechanismus der Chelatkomplexe K-Mg-Aspartat bis heute nicht eindeutig abgeklärt ist, lassen sich doch folgende Wirkungen, nochmals kurz gefaßt, darstellen:

a) Eine elektrophysiologische Wirkung als Elektrolyte im System der K-Na-Pumpe. (Ionen-Carrier)
b) Eine wirkung auf den Stoffwechsel von sowohl regenerativem, stabilisierendem, als auch stoffwechselaktivierendem Charakter.

Diese Eigenschaften, die schon seit Ende der fünfziger Jahre zum erfolgreichen Einsatz der Aspartate in der Intensivmedizin geführt haben, ließen auch die Einführung von K-Mg-Aspartat, als Stabilisatorzusatz, in die Blutkonservierung sinnvoll erscheinen. Vor allem im Hinblick auf seine Schutzfunktion an der Erythrozytenmembran und den zu verhindernden hohen Kaliumefflux versprach man sich davon eine Verbesserung.

Der Erythrozyt:

Der Weg zu einer verbesserten Blutkonservierung führte über die Erforschung des Zellstoffwechsels, und zwar primär des Stoffwechsels der Erythrozyten, da diese quanti-

tativ und auch in Hinsicht auf ihre Sauerstoff-bindende und -Übertragende Funktion die dominierende Rolle unter den Blutzellen spielen (65).
Der Erythrozyt, der mangels ausreichender Mitochondrienzahl, im Gegensatz zu seinen Vorstufen, über keine aktive Atmung verfügt, gewinnt die notwendige Energie zum Aufbau energiereicher Verbindungen zu 8o-9o% aus dem anaeroben Glucoseabbau über den Embden-Meyerhof-Weg (65). unter diesen energiereichen Verbindungen kommt die wichtigste Rolle dem 2,3-DPG, das in einem Seitenweg der Glykolyse, der Phosphoglyceratkinasereaktion, gebildet wird, und dem Adenosin-Triphosphat zu.
Die Konzentration des ATP, das einen starken Einfluß auf die Vorgänge an der Zellmembran besitzt, wird für das Ausmaß des aktiven Ionentransportes (K-Na-Pumpe), eine zur Aufrechterhaltung des Funktionszustandes der gelagerten Erythrozyten notwendige Voraussetzung, verantwortlich gemacht(11,31).
Die Konzentration des 2,3-DPG steuert einmal die O_2-Bindung an das Hämoglobin (7), zum anderen kann durch Wiedereinschleusen von DPG in die Glykolyse erneut ATP gewonnen werden.
So stellt sich nach Ansicht verschiedener Autoren ein direkter Zusammenhang zwischen dem ATP-Gehalt des Blutes und der Überlebensrate der Erythrozyten (54,6o,89), sowie zwischen dem Gehalt an 2,3-DPG und ihrer Sauerstoffbindungskapazität, also Fähigkeit zur Ausübung der physiologischen Funktion der Erythrozyten, dar.
Da beide Verbindungen aus der Glykolyse gewonnen werden, ist also die ausreichende Glykolysefähigkeit der Erythrozyten ein primäres Beurteilungskriterium für die Qualität des verwendeten Stabilisators. Ebenso ist das aktuelle Ionenverhältnis im konservierten Blut ein Maßstab für die Fähigkeit des Stabilisators, das, funktio-

nell notwendige, hohe Konzentrationsgefälle des intrazellulären Kalium gegen das Natrium im Plasma aufrecht zu erhalten, was ja über die Regulation durch das ATP auch wieder von der Glykolyserate abhängig ist. Ein großes Problem ist nun, daß die Glykolyse sich hier durch ihre Lactatbildung selbst limitieren muß, da ja die Blutkonserve ein geschlossenes System darstellt, in dem das entstandene Lactat nicht abtransportiert oder abgebaut wird, also zwangsläufig das Milieu saurer und dadurch die Glykolyse gehemmt wird (36,39,4o).

An einen Stabilisator, der die einfache ACD-Lösung übertreffen soll, wären also u.a. folgende Forderungen zu stellen: Einmal müßte er das Absinken des pH-Wertes in den für die Glykolyse kritischen Bereich verzögern; zum zweiten müßte er den zu starken Kaliumefflux aus den Erythrozyten verhindern; und zum dritten müßte er die Glykolyserate möglichst steigern, um eine hohe Ausbeute an energiereichen Phosphaten zu erreichen.

Zu diesem Zwecke wurde in der vorliegenden Arbeit mit K-Mg-Aspartat konserviertes Blut anhand folgender Parameter untersucht:

1.) Abnahme der zugesetzten Glucose als Maß für die Hexokinaseaktivität.
2.) Das nachweisbare Fructose-1,6-Diphosphat als Maß für die Aktivität der als Schlüsselenzym der Glykolyse geltenden Phosphofructokinase.
3.) Natrium und Kalium im Serum als Maß für die intra- extrazelluläre Elektrolytverschiebung.
4.) Hämatokrit und Hämoglobingehalt des Vollblutes, sowie
5.) der pH-Wert im Serum.

MATERIAL UND METHODIK

Allgemeine Grundlagen:

Es wurden bereits mehrfach vergleichende Untersuchungen zwischen normal ACD-konserviertem und mit Aspartat-Zusatz stabilisiertem Blut vorgenommen (9,47, 72a). Erste Ergebnisse daraus zeigten zwar z.T. aussichtsreiche Ansätze, konnten jedoch noch nicht voll befriedigen. Vermutlich lag ein Problem noch darin, das optimale quantitative Verhältnis der einzelnen Bestandteile der Lösung herauszufinden.

Bei der Konzeption des von uns zu untersuchenden neuen K-Mg-Aspartat-Stabilisators hatten wir u.a. die Zielsetzung, durch den Aspartat-Zusatz eine möglichst große Menge an Citrat und Citronensäure einsparen zu können, und dadurch schon im Ausgangswert in einen für die Glykolyse günstigeren, sprich höheren, pH-Bereich zu fallen. Nach diversen Vorversuchen, unter Variation der Verwendung von Na-Citrat oder Mg-Citrat, stand schließlich folgende Zusammensetzung als augenscheinlich günstigste fest:

Stammlösung 1 :

31,56 g Magnesiumcitrat
14,4o g Glucose-1-hydrat
9,6o g Citronensäure

1ooo ml Aqua dest.

Stammlösung 2 :

6o,oo g Magnesium-L-Aspartat
6o,oo g Kalium-L-Aspartat

1ooo ml Aqua dest.

Jeweils 9,375 ml der Lösung 1 und 6,25 ml der Lösung 2 wurden in evakuierte 1oo ml Weithalsflaschen zusammengegeben.[1)]

Aus der gestauten Armvene wurden jeweils 4oo ml Blut von 24 Probanden (13 männl.,11 weibl.) im Alter zwischen 22 und 35 Jahren abgenommen. Die eine Hälfte davon wurde mit ACD-Lösung in der üblichen Zusammensetzung von

22,o g Natrium citricum
8,o g Acidum citricum
25,o g Sacch. amylac.

1ooo g Aqua dest. (nach Mollison)

stabilisiert, die andere mit der zu erprobenden Stabilisatorlösung. Da wir uns auf vier Bestimmungstage festgelegt hatten, wurden von jedem Probanden 4x5o ml Blut in die Flaschen mit ACD-Lösung , sowie 4x5o ml in die Flaschen mit K-Mg-Aspartat-Stabilisator eingebracht. Leichte Schwankungen der abgenommenen Blutmenge, von ca.+/-1 ml pro Flasche,mußten dabei in Kauf genommen werden.

Das Blut wurde sofort abgekühlt und anschließend in einer Kühlzelle bei 4°C erschütterungsfrei gelagert.

Die Bestimmungsabstände wurden auf 1, 3, 7, und 21 Tage nach Abnahme festgelegt. Dabei gingen wir davon aus, daß, wie die Erfahrung zahlreicher Untersuchungen gezeigt hat, die durch die Konservierung bedingten Stoffwechselveränderungen sich überwiegend in der ersten Lagerungswoche abspielen (36,43,55,84). Den 21. Tag wählten wir als letzten Bestimmungszeitpunkt, da ein Lagerungszeitraum von drei Wochen nach allgemeiner Ansicht das Maximum darstellt.

[1)] Der Firma Dr.Franz-Köhler-Chemie, Alsbach/Bergstraße gebührt hier Dank für ihre großzügige Unterstützung.

Bestimmungsmethoden:

Hb und Hk wurden aus dem Vollblut mit dem Cell-Counter Modell S der Firma Coulter Electronics bestimmt. Dazu wäre noch nachzutragen, daß wir auch den initialen Hb- und Hk-Wert des frisch in EDTA-Röhrchen abgenommenen Blutes bestimmten.

Die Serumkonzentration von Natrium- und Kalium-Ionen wurde mit dem vollautomatischen Analysegerät Stat-Ion der Firma Technikon ermittelt.

Der pH-Wert im Serum wurde mit Hilfe des pH-Meters WTW Digi 61o gemessen.

Da es für die Meßgenauigkeit dieser Geräte sehr wichtig ist,die Temperatur des Untersuchungsgutes genau zu berücksichtigen, wurde das Serum im Eisbad auf $0^{o}C$ gehalten und das pH-Meter auf diese Temperatur exakt eingeeicht.

Die Glucose wurde nach der GOD-Perid-Methode bestimmt.

Die Bestimmung von Fructose-1,6-Diphosphat (FDP), Dihydroxyacetonphosphat (DAP) und Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GAP) wurde nach der von Michal und Beutler beschriebenen Methode durchgeführt.

Enzymatische Bestimmung der Glucose:

Prinzip:

Glucoseoxydase katalysiert die Oxydation von Glucose nach folgender Gleichung:

$$\text{Gluc.} + O_2 + H_2O \xrightarrow{\text{GOD}} \text{Gluconsre.} + H_2O_2$$

Peroxydase katalysiert die Oxydation von ABTS durch H_2O_2 zu einem blauen Farbstoff, dessen Konzentration photometrisch bei 436 nm bestimmt werden kann, und der Glucosekonzentration proportional ist.

Reagenzien:

1.) Perchlorsäure ca. o,33n.
2.) Phosphatpuffer 1oo mMolar, pH 7,o mit GOD 1o U/ml und POD o,8 U/ml sowie 1,o mg ABTS/ml.
(ABTS=2,2-azino-di(3aethyl-benz-thiazolino)-6'-Sulfonat)
3.) Glucose-Standartlösung (9,1 mg%).

Versuchsablauf:

Zur Enteiweißung werden o,1ml Blut mit 1,o ml Perchlorsäure vermischt und 1o min. bei 3ooo upm zentrifugiert. Sodann wird in Reagenzgläser pipettiert:

	Leerwert	Standard	Probe
Aqua bidest	o,1 ml	-	-
Lösung 3	-	o,1 ml	-
Überstand d. enteiw. Probe	-	-	o,1 ml
Lösung 2 -	5,o ml	5,o ml	5,o ml

Das ganze wird gemischt und bei Zimmertemperatur (ca.25°C)

unter Vermeidung direkter Sonnenbestrahlung 5o min. stehen gelassen. Dann wird in Küvetten von 1 cm Schichtdicke die Extinktion der Probe und die Extinktion des Standards bei 436 nm gegen den Leerwert gemessen.
Die Berechnung der Glucosekonzentration erfolgt nach der Formel:

$$c_{Gluc.} = 5{,}55 \times \frac{Extinktion_{Probe}}{Extinktion_{Standard}} \quad \text{in mMol/l}$$

Enzymatische Bestimmung von FDP, DAP und GAP:

Zur Bestimmung aller drei Parameter dient dieselbe Indikatorreaktion.

Prinzip:

1) Aldolase spaltet Fructose-1,6-Diphosphat in DAP und GAP.

$$FDP \xleftrightarrow{\text{Aldolase}} DAP + GAP$$

2) Triosephosphatisomerase katalysiert das Gleichgewicht zwischen DAP und GAP.

$$GAP \xleftrightarrow{TIM} DAP$$

3) Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase katalysiert die Reduktion von DAP mit reduziertem NADH.

$$DAP + NADH + H^+ \xleftrightarrow{GDH} \text{Glycerin-3-Phosphat} + NAD^+$$

Zusammengefaßt ergibt sich also die Gleichung:

4) $$FDP + 2\ NADH + 2H^+ \longleftrightarrow \text{Glycerin-3-Phosphat} + 2\ NAD^+$$

Gemessen wird die mit der Dehydrierung von NAD verbundene Extinktionsabnahme bei 365 nm.

Reagenzien:

(1) Kaliumcarbonatlösung (ca. 5-Molar)
(2) Perchlorsäure (ca. 6%)
(3) Triäthanolamin-Puffer (o,4 M, pH 7,6)
(4) Reduziertes Nicotin-Adenin-Dinucleotid (ca. 5mM β-NADH)
(5) Glycerin-3-phosphat-Dehydrogenase-Suspension (ca. 1,o mg Protein/ml)
(6) Triosephosphat-Isomerase-Suspension (ca.5oμg Prot./ml)
(7) Aldolase-Suspension (ca. 1,5 mg Protein/ml)

Versuchsablauf:

Zur Enteiweißung werden 5 ml Perchlorsäure mit 1 ml Blut vermischt und 1o min. bei 3ooo upm zentrifugiert.
Das Sediment wird mit 1 ml Perchlorsäure und 1 ml Wasser aufgewirbelt und bei 5ooo upm nochmals 1o min. zentrifugiert.
Danach müssen die Überstände vereinigt und mit Glasrührern versehen im Eisbad mit Kaliumcarbonat (Lsg.1) auf ca. pH 3,5 eingestellt werden. Schließlich ist das Ganze mit Aqua dest. auf 8 ml Endvolumen zu bringen und noch 15 min. im Eisbad stehen zu lassen; dann vom Niederschlag abzupipettieren und Aliquot der Überstandes zur Messung einzusetzen.

In Küvetten von 1 cm Schichtdicke wird pipettiert:

Puffer (Lsg.3)	1,5 ml
Probe	1,5 ml
NADH (Lsg.4)	o,o1 ml

Das Ganze wird gemischt, auf Raumtemperatur gebracht, und die Anfangsextinktion E_1 abgelesen.
Nun o,o1 ml GDH-Suspension (Lsg.5) zufügen, mischen, und nach Ablauf der Reaktion (5-7 min.) Extinktion E_2 ablesen. Dann o,o1 ml TIM-Suspension (Lsg.6) zugeben, mischen, und nach 3-5 min. Extinktion E_3 ablesen. Danach o,o1 ml Aldolase-Suspension (Lsg.7) hinzugeben, mischen, und nach Ablauf von ca. 1o min. Extinktion E_4 ablesen.

$E_1 - E_2$ ergibt ΔE_{DAP}

$E_2 - E_3$ ergibt ΔE_{GAP}

$E_3 - E_4$ ergibt ΔE_{FDP}

Die Konzentrationen wurden wie folgt errechnet:

Für DAP nach der Formel:

$$c = E_{DAP} \times 592$$

Für GAP nach der Formel:

$$c = E_{GAP} \times 495$$

Für FDP nach der Formel:

$$c = E_{FDP} \times 298$$

Die Verdünnung durch Extraktion und Neutralisation wurde durch Multiplikation des Ergebnisses mit dem Faktor

$$F_{Blut} = \frac{8 \times \text{spezif. Gew. Blut}}{\text{Blutvolumen}} = 8{,}48$$

berücksichtigt.
Das Ergebnis erhält man demgemäß in nMol/ml Blut.

STATISTIK

Die statistische Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Biometrie durchgeführt.
Aus jeder Meßwertgruppe wurde das arithmetische Mittel $\bar{x}$, die Standardabweichung s und die Varianz v berechnet.
Um feststellen zu können, ob die quantitativen Veränderungen der einzelnen Parameter über den Untersuchungszeitraum hin als signifikant zu bezeichnen sind, wurde die einfache Varianzanalyse in Kombination mit dem Scheffé-Test vorgenommen.
Ob sich signifikante Unterschiede zwischen den sich jeweils entsprechenden Werten bei ACD- oder K-Mg-Aspartat-Konservierung ergeben, sollte, da es sich um relativ kleine Stichproben handelt, mit dem T-Test nach Student nachgeprüft werden.

Von einfacher Signifikanz sprechen wir bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von p kleiner als o,o5 (5%). Bei p kleiner als o,o1 (1%) liegt ein hochsignifikanter Unterschied vor.

Zur Berechnung wurden die Einzelwerte im Rechenzentrum auf Lochkarten geschrieben und per Computer ausgewertet.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Deichsel vom Institut für Biometrie für seine freundliche Beratung danken.

ERGEBNISSE

1.) Glucose: (in mMol/l)

a) bei K-Mg-Aspartat-Konservierung:

	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24
$\bar{x}$	1o,33	9,13	8,o2	4,9o
v	o,55	o,39	3,36	o,33
s	o,74	o,63	1,83	o,57

Der Glucosewert fällt stark und über den gesamten Zeitraum kontinuierlich ab. Hochsfgnifikante Unterschiede liegen hierbei zwischen sämtlichen Werten vor.

b) bei ACD-Konservierung:

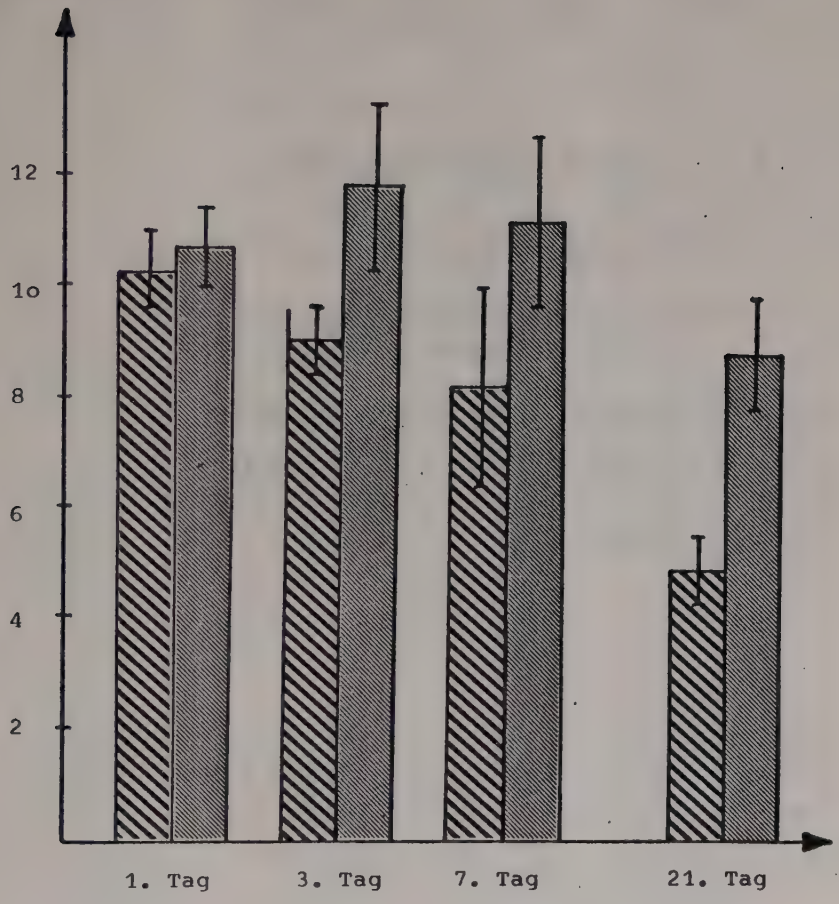
	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24
$\bar{x}$	1o,68	11,o8	11,2o	8,75
v	o,52	2,21	2,3o	1,oo
s	o,72	1,49	1,52	1,oo

Die Glucosewerte schwanken innerhalb der ersten Lagerungswoche nur geringfügig, dabei ist kein Glucoseverbrauch festzustellen. Erst am 21. Tag zeigt sich eine

gegenüber allen vorhergehenden Werten hochsignifikante Glucoseabnahme.

Beim Vergleich der beiden Konservierungen zeigen sich am ersten Tag ein signifikanter, an den folgenden Tagen sogar hochsignifikante Unterschiede.

Glucose in mMol/l



2.) Fructose-1,6-Diphosphat bei K-Mg-Aspartat-Konservierung

(in nMol/ml):

	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	23	24	24	8
$\bar{x}$	44,39	52,33	7o,86	4,11
v	161,28	244,62	175,18	9,o
s	12,7o	15,64	13,24	3,o

Bis zumsiebten Tag steigt das FDP kontinuierlich an, um dann bis zum Ende der dritten Woche steil abzufallen.

Dabei ergeben sich hochsignifikante Unterschiede zwischen folgenden Werten:

1. gegen 7. Tag; 1. gegen 21. Tag
3. gegen 7. Tag; 3. gegen 21. Tag
sowie 7. gegen 21. Tag.

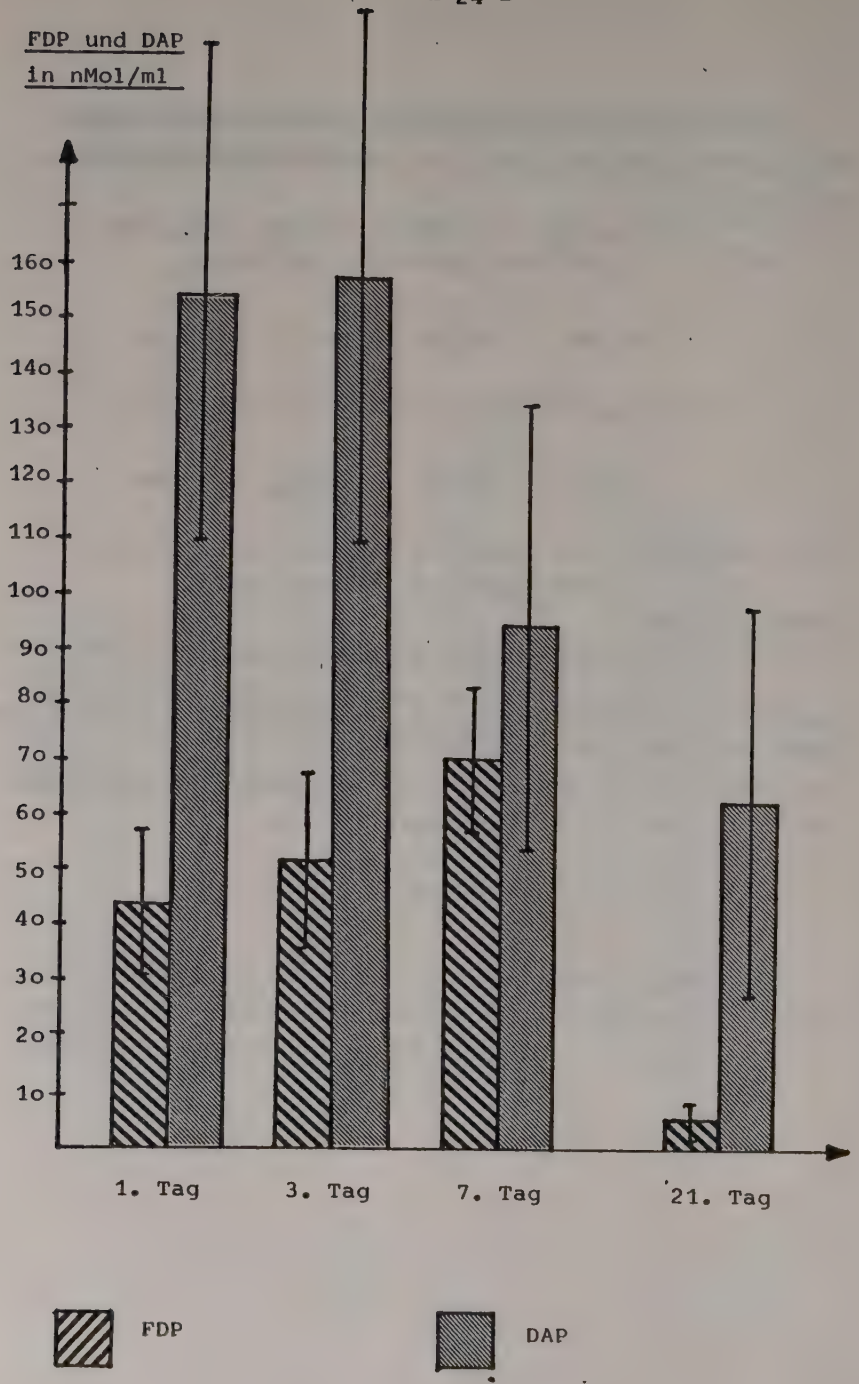
Ein Vergleich mit Werten der ACD-Konserven konnte hier leider nicht vorgenommen werden, da aus diesem Blut keine Werte für FDP erhalten werden konnten.

3.) Dihydroxy-Aceton-Phosphat bei K-Mg-Aspartat-Konservierung (in nMol/ml).

	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	23	24	24	2o
$\bar{x}$	154,9o	157,57	94,75	61,5o
v	1961,17	2351,2o	1545,o7	1225,32
s	44,92	48.49	39,31	35,oo

Hochsignifikant sind dabei die Unterschiede zwischen
1. und 7. Tag; 1. und 21. Tag
sowie zwischen
3. und 7. Tag; 3. und 21. Tag.

Auch für DAP erhielten wir aus der ACD-Konserve keine Ergebnisse.
GAP ließ sich bei beiden Konservierungsmethoden nicht nachweisen.


FDP und DAP
in nMol/ml
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag
FDP
DAP

4.) Der pH-Wert:

a) im K-Mg-Aspartat-stabilisierten Blut:

	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24
$\bar{x}$	7,59	7,54	7,48	7,19
v	o,oo78	o,oo6o	o,o11o	o,oo43
s	o,o9	o,o8	o,11	o,o7

Der pH-Wert fällt über die drei Lagerungswochen nahezu kontinuierlich von pH 7,6 auf pH 7,2 ab. Hochsignifikante Unterschiede ergeben sich dabei zwischen dem

1. und 7. Tag; 1. und 21. Tag

sowie zwischen

3. und 21. Tag; 7. und 21. Tag.

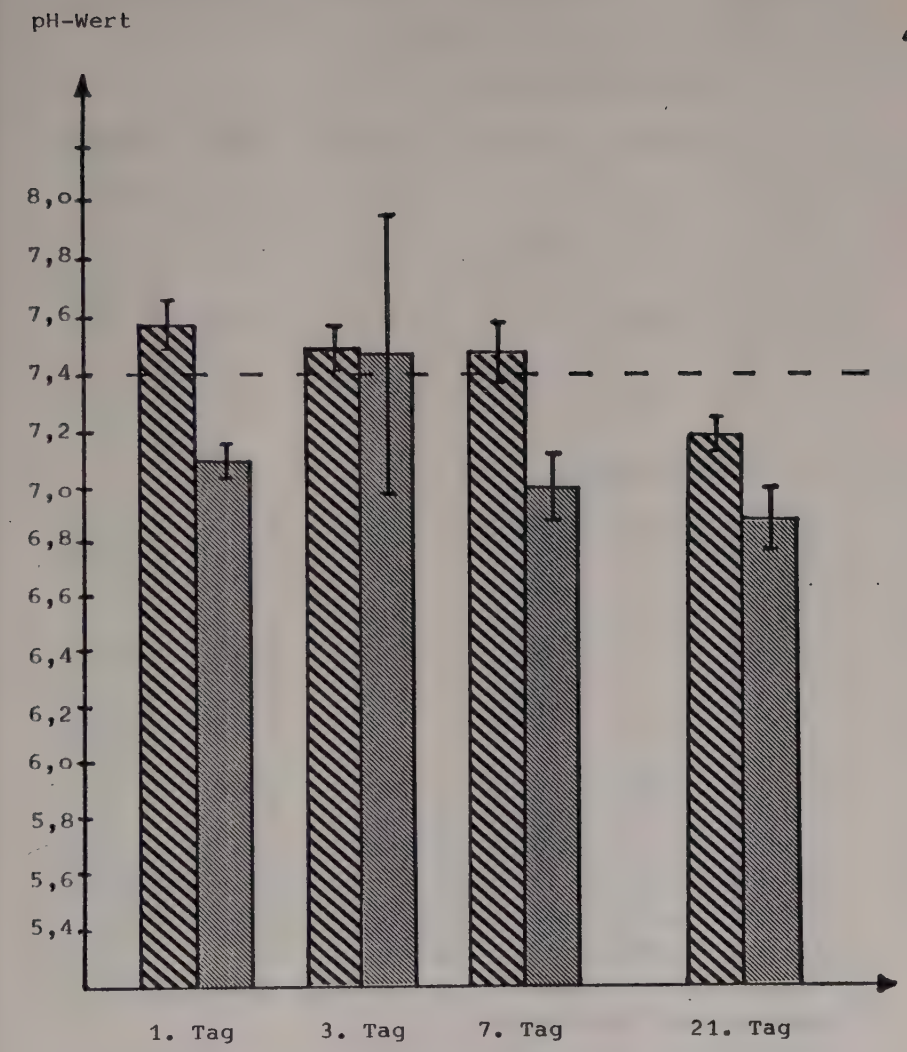
b) im ACD-Blut:

	1.Tag	3. Tag	7. Tag	21.Tag
n	6	24	12	24
$\bar{x}$	7,11	7,45	7,o4	6,94
v	o,oo39	o,2382	o,o136	o,o112
s	o,o6	o,49	o,12	o,11

Der pH-Wert fällt vom ersten bis zum 21. Tag von pH 7,6

auf pH 7,2 ab. (Das Hochrutschen auf 7,45 am dritten Tag ist dabei nicht erklärlich; dadurch werden die Unterschiede vom dritten zum 4. und zum 21. Tag hochsignifikant.) Die Gesamtdifferenz vom ersten zum 21. Tag ist signifikant auf dem 5%-Niveau.

Beim Vergleich der beiden Konservierungen ergibt sich für jedes Wertepaar ein hochsignifikanter Unterschied.
Es fällt ferner auf, daß sogar der Endwert des K-Mg-Aspartat-konservierten Blutes noch über dem Ausgangswert des ACD-Blutes liegt, obwohl der Abfall im ersten Fall mit o,4 Einheiten betragsmäßig größer ist als im zweiten Fall, wo er o,2 Einheiten beträgt.


pH-Wert
8,o
7,8
7,6
7,4
7,2
7,o
6,8
6,6
6,4
6,2
6,o
5,8
5,6
5,4
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag
im K-Mg-Asp.-stabil. Blut.
im ACD-Blut.

5.) Hämoglobin und Hämatokrit wurden nur im K-Mg-Aspartat-stabilisierten Blut bestimmt.

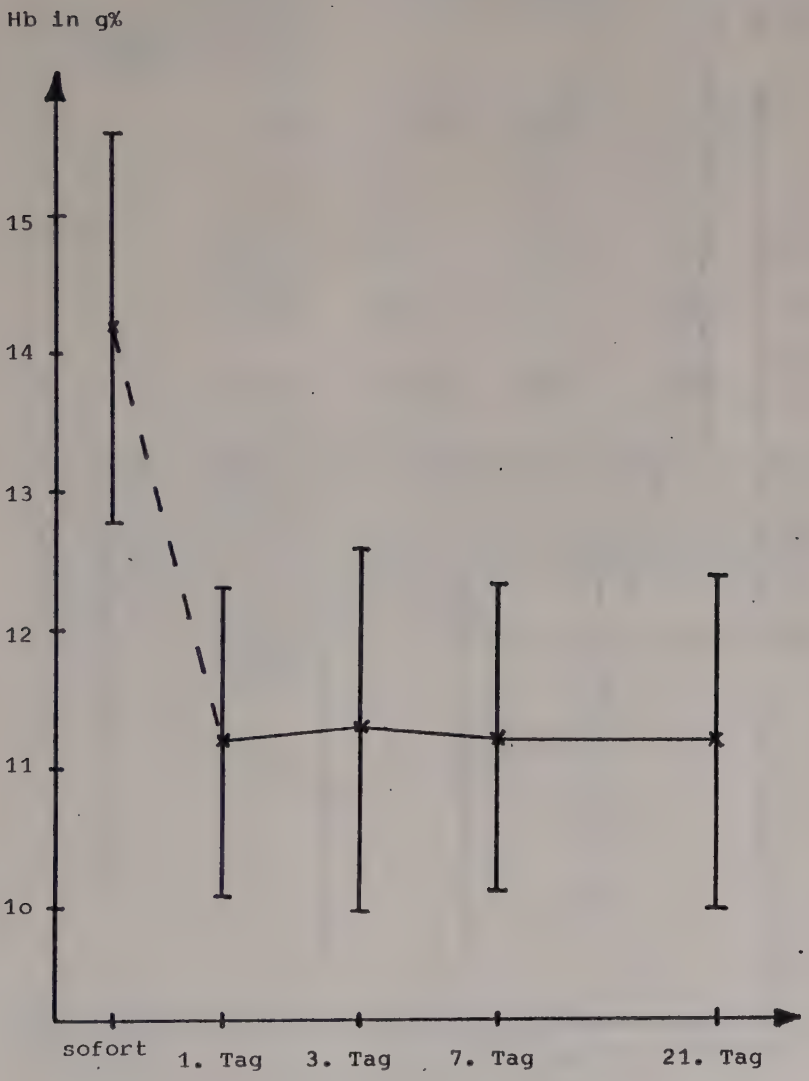
a) Hb-Gehalt (in g%):

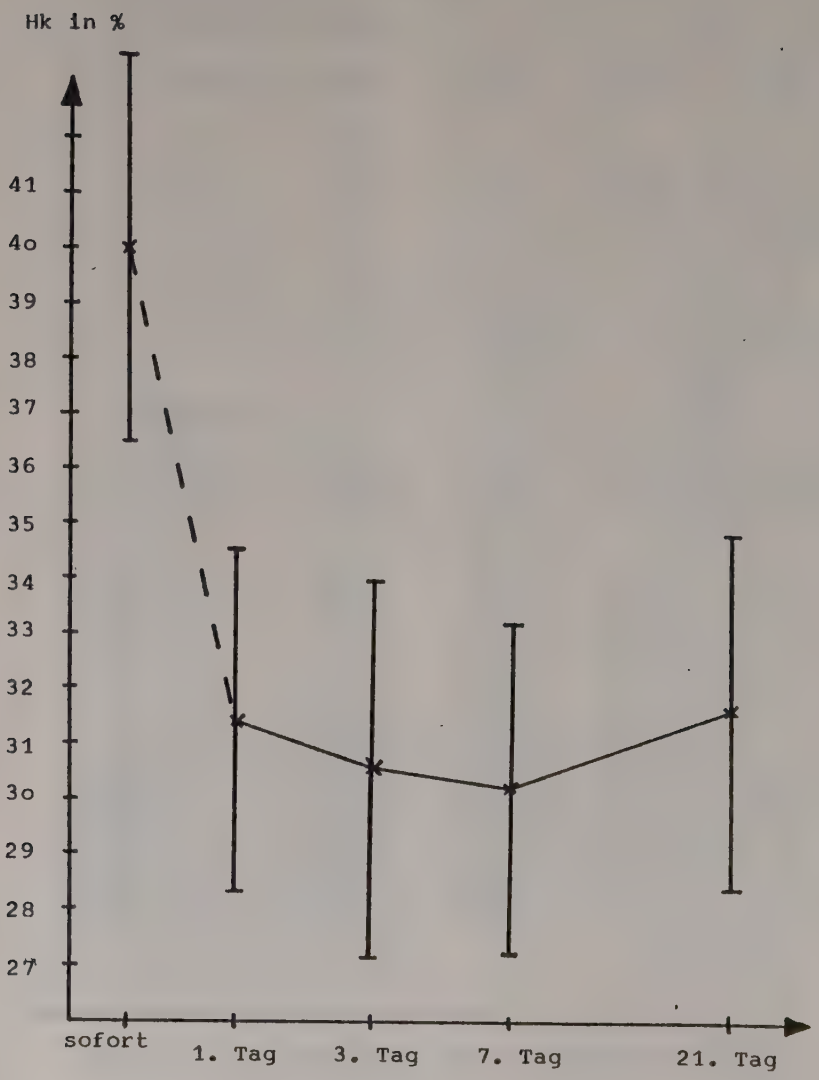
	sofort	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24	24
$\bar{x}$	14,2	11,2	11,3	11,2	11,2
v	1,96	1,3o	1,65	1,o9	1,37
s	1,4	1,1	1,3	1,1	1,2

b) Hämatokrit :

	sofort	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24	24
$\bar{x}$	4o	31,4	3o,6	3o,2	31,6
v	12,11	9,3o	11,38	8,84	1o,o7
s	3,5	3,1	3,4	3,o	3,2

Abgesehen von dem initialen Hb-Abfall, der sich zwischen den sofort aus dem frischen Blut bestimmten und den am ersten Konservierungstag erhaltenen Werten ergibt, bleibt der Hb-Gehalt praktisch konstant.
Analog verhält sich auch, von geringen Schwankungen abgesehen, der Hämatokritwert.


Hb in g%
15
14
13
12
11
1o
sofort
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag


Hk in %
41
4o
39
38
37
36
35
34
33
32
31
3o
29
28
27
sofort
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag

6.) Elektrolyte:

(ebenfalls nur im K-Mg-Asp.-stabilis.Blut best.)

a) Kalium: (in mVal/l)

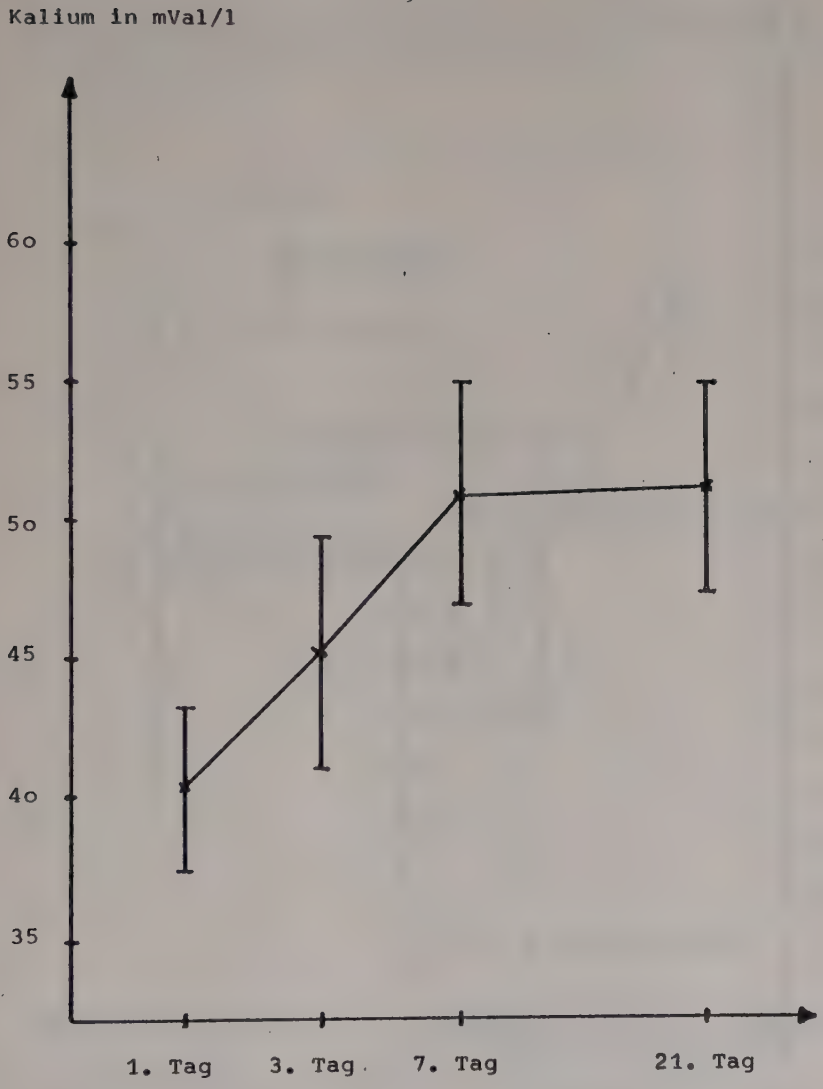
	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24
$\bar{x}$	4o,43	45,27	5o,93	51,28
v	8,68	18,19	16,16	15,13
s	2,95	4,35	4,o2	3,89

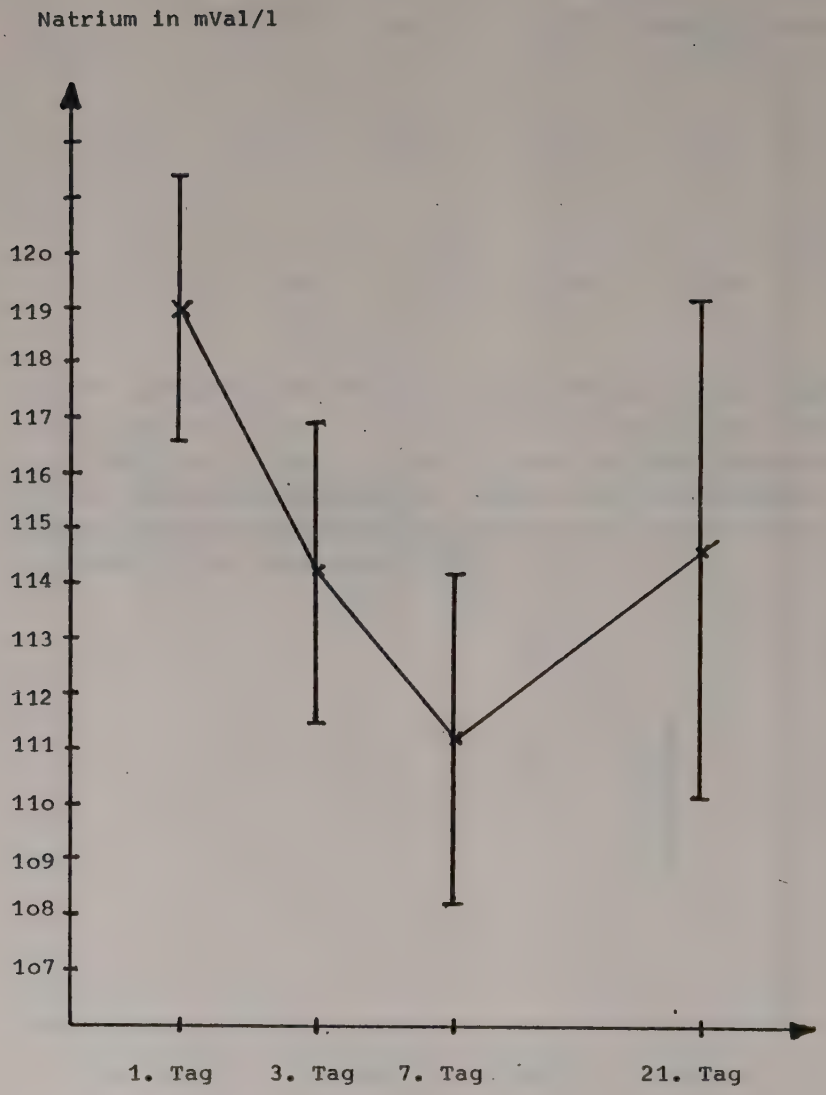
Das Kalium steigt in der ersten Lagerungswoche um rund 25% des Ausgengswertes an.
Im weiteren Verlauf ergibt sich nur noch ein geringfügiger Anstieg um nochmals 2,5%, ohne Signifikanz zwischen dem 7. und dem 21. Lagerungstag.
Die Differenzen zwischen den übrigen Werten dagegen sind alle hochsignifikant.

b) Natrium: (in mVal/l)

	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
n	24	24	24	24
$\bar{x}$	119,oo	114,25	111,21	114,67
v	5,75	7,33	8,87	19,97
s	2,36	2,71	2,98	4,47

Beim Natriumspiegel zeigt sich nur initial ein hochsignifikanter Abfall von 119 auf 114 mVal/l, wobei die Werte vom dritten bis zum 21. Tag alle grob auf dem 95%-Niveau (93%-96%) des Ausgangswertes liegen. Sie weisen dabei jeweils nur zum ersten Tag, untereinander jedoch keinen signifikanten Unterschied auf.

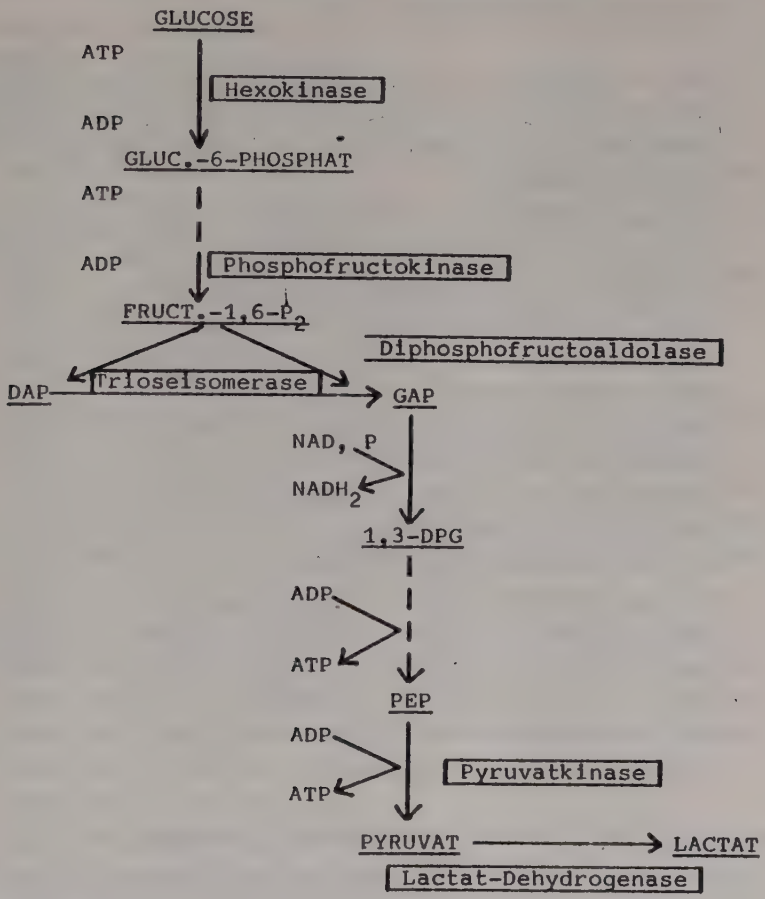

Kalium in mVal/l
60
55
50
45
40
35
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag


Natrium in mVal/l
12o
119
118
117
116
115
114
113
112
111
11o
1o9
1o8
1o7
1. Tag
3. Tag
7. Tag
21. Tag

DISKUSSION

a) Kohlenhydratstoffwechsel:

Zur Verbesserung der Anschaulichkeit der Zusammenhänge sei hier zunächst ein abgekürztes Schema der anaeroben Glykolyse aufgezeichnet:



Es geht daraus die vielfältige Verflechtung von Kohlen-

hydrat- und Energiestoffwechsel hervor, und damit wird die Notwendigkeit verständlich, letzteren auch in dieser Arbeit immer wieder zu streifen. Dazu werden, soweit notwendig, die Ergebnisse von K.Schmid, die unter denselben Konservierungsbedingungen für ihre Untersuchungen über den Energiehaushalt und die Sauerstoffbindungskapazität u.a. die Parameter ATP, 2,3-DPG, sowie Lactat und Pyruvat bestimmte, herangezogen (72).

Die vorliegende Arbeit befaßt sich bezüglich des Kohlenhydratstoffwechsels hauptsächlich mit den beiden Schlüsselenzymen der Glykolyse, der Hexokinase und der Phosphofructokinase(PFK).
Wie aus verschiedenen Untersuchungen über die Glykolysefähigkeit der Erythrozyten hervorgeht,(19,82), sind in der Konserve, im Gegensatz zu den Vorgängen in vivo, nicht die Enzymaktivitäten als begrenzend anzusehen; vielmehr sollen hier die Substrate und Metabolite den begrenzenden Faktor darstellen.
Dieses unterschiedliche Verhalten wird der unterschiedlichen Temperatur von 37°C in vivo gegen 4°C Lagerungstemperatur der Konserven zugeschrieben. So soll eine höhere Konservierungstemperatur einen stärkeren Abfall der Enzymaktivität nach sich ziehen (51).
In jedem Fall ist es die gängige Methode, die Enzymaktivität anhand des Substratverbrauchs oder der Entstehung bzw. Zunahme von Metaboliten nachzuweisen.

1.) Glucose:

Im Vergleich der beiden Konservierungsmethoden zeigt sich bei der ACD-Konserve im Verlauf der ersten Woche kein Glucoseverbrauch. Erst am Ende der dritten Lagerungswoche ist eine Abnahme der Glucosekonzentration um insgesamt 2o% des Ausgangswertes festzustellen.

Das K-Mg-Asp.-stabilisierte Blut zeigt ein völlig entgegengesetztes Verhalten:
Hier stellt sich ein kontinuierlicher Abfall der Glucosewerte um ca. 2o% pro Woche dar. Am 21. Tag beträgt der Glucosegehalt der Konserve noch 48% des Ausgangswertes. Dabei differieren schon die als Ausgangswerte gleich 1oo% gesetzten Beträge des ersten Bestimmungstages, (entspricht einem Tag Konservierungsdauer), einfach signifikant(5%-Niveau). An den folgenden Tagen ist die Differenz jeweils hochsignifikant (1% Irrtumswahrscheinlichkeit).
Das legt folgende Erklärung nahe:
Die Hexokinase,als Enzym der ersten glykolytischen Abbaustufe, unterliegt vielfältigen Einflüssen (12,24,26,4o). So hemmen Glucose-6-Phosphat, 2,3-DPG, sowie eine hohe H^+-Ionenkonzentration die enzymatische Reaktion, während Mg^{2+}-Ionen, sowie ein MgATP-Komplex sich nachgewiesenermaßen (12,23,4o) förderlich darauf auswirken.
Nach Jacobasch ergibt sich im Magnesiummangel eine Abnahme der Maximalaktivität der Hexokinase von 45%, was wiederum eine Verminderung der Glykolyserate um 5o% zur Folge hat. Eine höhere Mg^{2+}-Ionenkonzentration dagegen fördert die Glykolyse und steigert damit den Glucoseverbrauch (35,42,67).
Unser K-Mg-Aspartat-Stabilisator fördert also einmal vom Magnesiumangebot schlechthin her gesehen die Glykolyse, zum anderen sorgt der Aspartat-Komplex in seiner Eigenschaft als Kationencarrier dafür, daß die Mg^{2+}-Ionen

auch durch die Zellmembran hindurch an den Ort des Bedarfs, nämlich in den Erythrozyten, gelangen können. (2o,58,69,86).
Der andere Ansatzpunkt, eine Verbesserung durch unseren Stabilisator anzunehmen, liegt im pH-Wert, der ja bei K-Mg-Asp.-Konservierung an sämtlichen Bestimmungstagen hochsignifikant über dem der ACD-Konserven lag.

Das pH-Optimum der Hexokinasereaktion liegt bei pH 8,1 bis pH 8,3 (4o). Durch die laufende Lactatbildung wird der pH in der Konserve naturgemäß immer niedriger, sodaß die Gefahr besteht, daß der positive Effekt der Mg^{2+}-Ionen einerseits, über eine erhöhte Lactatbildung andererseits wieder aufgehoben wird. Die Überlegenheit der K-Mg-Asp.-Konservierung wird in diesem Punkt klar ersichtlich, denn trotz signifikant höherer Lactatbildung (72) liegt ihr Endwert am 21. Tag mit pH 7,19 noch über dem Ausgangswert der ACD-Konserve mit pH 7,11.

2.) Fructose-1,6-Diphosphat:

Die Phosphofructokinase(PFK) katalysiert den Transfer der terminalen Phosphatgruppe des ATP an die C-1-Hydroxylgruppe des Fructose-6-Phosphats und produziert so Fructose-1,6-Diphosphat(FDP) (21).
Das Enzym wird in seiner Schrittmacherfunktion durch verschiedene Metabolite minuziös reguliert, derart,daß die Glykolyserate exakt auf den zellulären Bedarf an Energie oder glykolytischen Intermediärprodukten abgestimmt wird (3,52,53,88).
Die Kontrolle der Glykolyse durch die PFK wird durch zahlreiche Untersuchungen bestätigt(61,62,64,66). So zeigen z.B. Versuche verschiedener Autoren am perfundierten Herz, am Skelettmuskel (46), sowie an Nierenrindenstücken

(83), daß ein Abfall der Glykolyserate eindeutig mit einem Abfall der PFK-Aktivität korreliert ist.

Doch zurück zu den Hauptregulationsmechanismen, denen die PFK selbst unterliegt. Teilweise sind es dieselben, die schon für die Hexokinase angeführt wurden.
So wirkt sich auch hier ein Magnesiummangel negativ auf die Enzymaktivität aus. Gleichfalls wird auch die PFK durch vermehrte Anwesenheit von H^+-Ionen gehemmt (4o,41).
Das Schwergewicht bei der Regulation liegt auf dem engen Zusammenspiel von ATP- und Fruct.-6-Phosphat-Konzentration, sowie dem pH-Wert des Mediums.
Eine hohe ATP-Konzentration hemmt die PFK, da ATP die Affinität der PFK zu ihrem zweiten Substrat, dem Fructose-6-Phosphat, herabsetzt. Daraus resultiert eine Anhäufung von Glucose-6-Phosphat, was wiederum eine Hemmung der Hexokinase zur Folge hat. Die Glykolyse wird also gedrosselt (21).
Die wichtige Rolle, die der pH-Wert dabei spielt, geht u.a. aus den Untersuchungen von Uyeda und Racker (21) hervor, die am Kaninchenmuskel zeigen konnten, daß bei einem pH von 7,1 ATP einen mächtigen PFK-Inhibitor darstellt, während dazu bei pH 7,6 - 8,5 sehr hohe ATP-Konzentrationen notwendig sind, und bei pH 9,o schließlich überhaupt keine Hemmung mehr erfolgt.

Nun ist die Hemmung einer Reaktion durch einen Endprodukt-Überschuß ja nichts ungewöhnliches, aber wenn die Konzentration dieses Substrates unter verschiedenen physiologischen Bedingungen variiert, wird die Möglichkeit eines funktionellen Reaktionsmechanismus augenfällig.
Bei der PFK wird die Regulierung einmal dadurch verfeinert, daß die Hemmfunktion des ATP erst einsetzt, wenn eine höhere als für die optimale katalytische Aktivität

des Enzyms notwendige ATP-Konzentration erreicht ist. Zum anderen wird die Hemmung sowohl durch ATP-Abbauprodukte (AMP, cyklo-AMP), als auch durch den Anstieg des Gluc.-6-Phosphats wieder reduziert.
Einen weiteren Inhibitor der PFK stellt das Citrat dar, das keinerlei strukturelle Ähnlichkeit mit Substraten oder Produkten der katalysierten Reaktion aufweist, und so in seiner hochspezifischen Hemmung das Konzept eines allosterischen Effektors nahelegt.

In unseren Ergebnissen zeigt sich bei K-Mg-Asp.-Konservierung im Verlauf der ersten Lagerungswoche eine hochsignifikante Zunahme der FDP von 44nMol/ml am ersten Tag auf 7o nMol/ml am siebten Tag. Am Ende der dritten Woche ist nur noch eine verschwindend geringe Konzentration von 4,1 nMol/ml gegeben.

Bei der ACD-Konservierung dagegen ist über den gesamten Lagerungszeitraum hinweg überhaupt kein FDP nachweisbar. Dies läßt theoretisch zwei Deutungsmöglichkeiten zu: Entweder das FDP wird so rasch weitermetabolisiert,daß es sich der Darstellung entzieht, oder aber es entsteht in so geringen Mengen, daß es mit unseren Methoden nicht nachzuweisen war.
Das oben erläuterte Verhalten des Glucoseverbrauchs, der in der ACD-Konserve insgesamt sehr gering ist, gibt in diesem Zusammenhang Anlaß, zur Annahme der zweiten Alternative zu tendieren. Doch wird die erste Möglichkeit dadurch keineswegs ausgeschlossen, denn es können ja kleine Mengen noch leichter sehr rasch weiter abgebaut werden, z.B. wenn, wie durch die Bestimmungsmethode gegeben, die Enzyme Aldolase und GPD im Überschuß vorhanden sind. Da die Methodik ja bei beiden Konservierungen dieselbe war, wird diese These noch wahrscheinlicher.
In jedem Fall bleibt das Ergebnis, daß bei K-Mg-Asp.-Kon-

servierung offensichtlich FDP in größerem Ausmaß gebildet wird.
Dies paßt eigentlich sehr gut zu unseren bisherigen Folgerungen. Wie bereits mehrfach erwähnt, wirkt sich das K-Mg-Aspartat günstig auf den Transport der erforderlichen Kalium- und Magnesium-Ionen aus, was allein schon zu einer Aktivitätssteigerung der PFK führen kann. Zudem ist es uns gelungen,mit unserem Stabilisator das Medium in einen günstigeren pH-Bereich zu bringen.
Die Bedeutung dieser letzteren Tatsache wiegt noch schwerer, wenn man die Ergebnisse K.Schmids heranzieht, die in der K-Mg-Asp.-Konserve über die gesamte Zeit einen der ACD-Konserve signifikant überlegenen ATP-Gehalt feststellt. Dies müßte ja nun eigentlich einen hemmenden Effekt auf die PFK-Reaktion haben. Daß dennoch eine erhöhte FDP-Konzentration auftritt, ist wohl dem höheren pH-Wert zu verdanken, der ja die Hemmfunktion des ATP herabsetzt.

3.) Dihydroxyacetonphosphat und Glycerinaldehyd-3-Phosphat:

Fructose-1,6-Diphosphat wird durch die Diphosphofructoaldolase in Dihydroxyacetonphosphat (DAP) und Glycerinaldehydphosphat (GAP) gespalten, die über die Triosephosphatisomerase (TIM) im Gleichgewicht stehen. Dabei liegt die Gleichgewichtskonstante der Ketose- und Triose-Bildung fast ausschließlich (zu 95%) auf Seiten des Dihydroxyacetonphosphats (11). So ist es nich weiter verwunderlich, daß wir in unserer Bestimmung nur für DAP auswertbare Ergebnisse erhielten. In der ACD-Serie dagegen waren beide Substanzen nicht nachweisbar.
Die DAP-Werte bei K-Mg-Asp.-Konservierung zeigen vom er-

sten zum dritten Tag eine ansteigende Tendenz, sodann sowohl vom 3. zum 7. als auch vom 7. zum 21. Tag einen hochsignifikanten Abfall. Die DAP-Konzentration nimmt also schon ab, während die des FDP vom 3. zum 7. Tag noch beträchtlich zunimmt.
Nun ist jedoch mit unseren Endergebnissen bezüglich der Glykolysekette (nämlich gesteigerter ATP-Gehalt und erhöhte Lactatbildung (72a)),die Annahme einer frühzeitigen Erschöpfung der Aldolase-Aktivität nicht in Übereinstimmung zu bringen. Also liegt es nahe, der allgemeinen Regel folgend, daß ein Enzym durch erhöhtes Substratangebot aktiviert werden kann, anzunehmen, daß der weitere enzymatische Abbau des DAP beschleunigt abläuft, sodaß es in seiner wahren Entstehungskonzentration nicht nachweisbar ist.

Zusammenfassend läßt sich also feststellen, daß die Untersuchung sämtlicher oben aufgeführter Parameter zum selben Ergebnis führt, nämlich, daß sich bei Verwendung unseres K-Mg-Asp.-Stabilisators im Vergleich zu mit ACD -Lösung konserviertem eine hochsignifikante Steigerung der Glykolyserate ergibt. Auch die Ergebnisse von K. Schmid bezüglich der ATP-Ausbeute (72a) stehen damit im Einklang.Danach zeigt sich nämlich im ACD-Blut ein kontinuierlicher, während der ersten Woche etwas flacherer, dann steiler ATP-Abfall auf ca. 6o% des Ausgangswertes. Im K-Mg-Asp.-stabilisierten Blut dagegen steigt der ATP-Gehalt vom ersten bis zum siebten Tag um über 1o% und fällt erst dann bis zum 21. Lagerungstag auf ebenfalls rund 6o% des Ausgangswertes. Dabei muß jedoch noch berücksichtigt werden, daß sowohl der Ausgangs- als auch der Endwert der ACD-Serie signifikant (ca.1o%) niedriger liegt als bei K-Mg-Aspartat-Konservierung.

Nun werden ja bekanntlich durch den glykolytischen Abbau aus einem Glucosemolekül zwei Moleküle ATP gewonnen, d.h.also, der Verlauf der ATP-Konzentration in der K-Mg-Aspartat-stabilisierten Serie korreliert mit unseren Ergebnissen bezüglich des Kohlenhydrat-Metabolismus. Damit wird die These, daß von ursächlichem Zusammenhang zwischen der Verwendung des K-Mg-Asp.-Zusatzes und der Steigerung der Glykolyserate gesprochen werden darf, offenbar bestätigt.

b) Der pH-Wert:

Es ist wünschenswert, daß der pH-Wert von Konservenblut im, oder wenigstens möglichst nahe am Normbereich desjenigen des menschlichen Blutes von 7,38 - 7,42 liegt.

Nun werden in einer frischen ACD-Konserve Werte von pH 6,8 bis pH 7,o beobachtet (5,28), während sich bei Verwendung unseres Stabilisators am ersten Lagerungstag ein mittlerer pH-Wert von 7,6 ergibt.
Auch insgesamt betrachtet bleibt der pH-Wert bei uns über die ganze Lagerungszeit hinweg näher am physiologischen Bereich als bei ACD-Konservierung.

Die zahlreichen günstigen Auswirkungen dieses höheren pH-Wertes auf den Erythrozytenstoffwechsel wurden in den vorangehenden Abschnitten bereits ausführlich dargestellt.

c) Hämoglobin und Hämatokritwert:

Bisher wurde stets auf die positiven Auswirkungen eines höheren pH-Wertes auf die Blutkonservierung abgehoben. Ein negativer Aspekt könnte sich jedoch bei Betrachten des Hb und Hk der Konserve ergeben.
Wie Dawson et al. beschreiben (17, 85), soll nämlich eine Erhöhung des pH-Wertes mit einer verstärkten Hämolyserate, verifizierbar anhand einer steigenden Plasma-Hämoglobinkonzentration, einhergehen.
Es müßte sich demnach in unseren Ergebnissen zweierlei zeigen: nämlich erstens eine kontinuierliche Hämatokritabnahme, und parallel dazu, da wir das Hämoglobin im Vollblut bestimmten, auch kontinuierlich eine relative Hämoglobin-Zunahme, die die herkömmliche Faustregel, nach der der Hk-Wert normalerweise ungefähr das Dreifache des Hb-Wertes betragen soll, außer Kraft setzt.
Beides ist jedoch nicht der Fall, Sowohl Hb als auch Hk bleiben über die gesamte Zeitdauer vom 1. bis zum 21. Lagerungstag konstant auf dem 80%-Niveau der aus sofort in EDTA-Röhrchen aufgefangenen Frischblut bestimmten Werte. (Für Hb genau 79%, für Hk genau 78% des Ausgangswertes.) Der initiale Abfall dürfte dabei wohl auf dem Verdünnungseffekt durch den Stabilisator beruhen.
(50 ml Blut werden durch 15 ml Stabilisator auf eine 77%-ige Lösung verdünnt; s. Abnahmebedingungen.)

d) Elektrolythaushalt:

Die Untersuchung der Elektrolyte in der Blutkonserve ist von zwei Aspekten her interessant. Einmal im Hinblick auf die Elektrolytbilanz, d.h., man betrachtet die Zu- bzw. Abnahme der Elektrolytkonzentration im Verlauf des Konservierungszeitraumes. Zum anderen ist die aktuelle Elektrolytkonzentration für sich betrachtet von großer Bedeutung, und zwar im Hinblick auf ihre Auswirkungen im Empfängerorganismus nach der Blutübertragung.

Beim ersten Punkt steht der möglichst gut und lange zu erhaltende Erythrozyt im Mittelpunkt des Interesses. Die gefürchtete extraerythrozytäre Kaliumdiffusion ins Plasma, die in Konserven auf Grund einer Aktivitätsminderung der K-Na-Pumpe beobachtet wird, ist hierbei ein wichtiges Geschehen. Sie besteht schon vor und führt zum Einsetzen hämolytischer Vorgänge (13,68).
Parallel zum K-Efflux kommt es zum Na-Influx, woraus insgesamt eine Zunahme der intrazellulären Kationen-Konzentration und damit des Zellvolumens resultiert. Dadurch kommt es zur Abnahme der osmotischen Resistenz und somit zu einer gesteigerten Hämolyserate (68).
Außerdem fördert Kalium erstens die Hexosediphosphatbildung durch seine katalytische Wirkung auf die Übertragung von Phosphatradikalen, und aktiviert zweitens die Dephosphorylierung des Phosphoenolpyruvats.
Die intrazelluläre Kaliumverarmung wirkt sich also in zweifacher Weise negativ auf den erythrozytären Kohlenhydratstoffwechsel aus, was zwangsläufig auch negative Konsequenzen für die Energiegewinnung mit sich bringt.

In Übereinstimmung mit früheren Untersuchungen (13) erhält Schaible (72) bei ACD-Konservierung eine kontinuierliche Na-Abnahme vom 1. bis zum 21. Lagerungstag um

rund 1o%, während das Natrium bei uns in 21 Tagen nur um 4% sinkt. Dabei liegen die ACD-Werte etwas oberhalb, die unsrigen etwas unterhalb des Normbereiches von 138-146 mVal/l. Dieser Konzentrationsunterschied bleibt konstant, und beruht vermutlich auf dem bereits erwähnten Verdünnungseffekt.

Für das Kalium ergibt sich in der ACD-Konserve eine Zunahme vom 1. zum 7. Konservierungstag auf das Doppelte, und bis zum 21. Tag sogar auf das Vierfache des Ausgangswertes. Bei uns dagegen zeigte sich vom 1. bis zum 7. Tag eine Erhöhung des Kaliumwertes nur um 25% und in den nächsten zwei Wochen nur noch um ein weiteres Prozent.

Beim Kalium täuscht jedoch diese auf den ersten Blick so günstig aussehende prozentuale Bilanz etwas, da die beiden Ausgangswerte auf keinem vergleichbaren Niveau liegen. Wenn man die absoluten Differenzen betrachtet, so ist der Serum-Kaliumzuwachs bei uns nur um ein Drittel niedriger als bei ACD-Konservierung.

Hierbei bleibt noch zu überlegen, ob der festgestellte Zuwachs überhaupt einer realen extrazellulären Kaliumdiffusion entspricht, oder ob unsere Werte nicht eventuell durch eine verzögerte Freisetzung der Kaliumionen aus dem Aspartat-Komplex mitbedingt werden. Doch wie dem auch sei, bleibt doch sowohl bezüglich der Natrium- als auch der Kalium-Bilanz ein positives Ergebnis, das die Kationen-Carrier-Funktion sowie eine Aktivierung der K-Na-Pumpe, die beide dem K-Mg-Asp.-Komplex zugeschrieben werden, zu bestätigen scheint.

Bezüglich des zweiten oben angeführten Gesichtspunktes sehen unsere Ergebnisse etwas problematisch aus, denn in Anbetracht des menschlichen Serumnormalwertes von 3,7-4,2 mVal/l stimmt eine absolute Serumkaliumkonzentration der Konserve von 4o-5o mVal/l doch bedenklich.

Zwar ist häufig gleichzeitig mit einer Bluttransfusion eine Kaliumsubstitution indiziert, z.B. um dem beobachteten oft hohen postoperativen Kaliumabfall, der bis zu 6 Stunden andauern kann (8o), entgegenzuwirken. Auch um das im Gefolge einer schweren Verbrennung auftretende Kaliumdefizit auszugleichen, ist ein massives K-Angebot erforderlich. So werden für solche Zwecke in der Intensivmedizin ja auch Infusionslösungen mit einem K-Gehalt von bis zu 8o mVal/l verwendet. Man könnte sich also in diesen Fällen durch den Einsatz von K-Mg-Asp.-stabilisiertem und dadurch K-angereichertem Blut das zusätzliche K-Angebot in der Infusionslösung ersparen, wobei noch der Vorteil hinzukäme, daß der K-Aspartat-Komplex ja erleichtert die Zellmembran passieren kann und somit vermehrt Kalium in die Zellen eingeschleust werden könnte. Die Indikation für die Verwendung einer Konserve mit so hohem Kaliumgehalt ist aber dadurch doch recht eingeschränkt.
Eine Kontraindikation steht außer Zweifel bei allen Fällen von Hyperkaliämie, Niereninsuffizienz oder unklarer Nierenfunktion, sowie im akuten Schockzustand. Außerdem muß sie auch für alle Situationen gelten, wo die Übertragung sehr großer Blutmengen notwendig wird.

Bei Operationen mit extrakorporalem Kreislauf z.B. wird ein mittlerer Verbrauch von 6-7l Blut zu Grunde gelegt(13). Bei solchen Mengen muß eine Summierung jeglicher, auch an sich harmloser, Stoffwechselprodukte über die toxische Grenze hinaus unbedingt vermieden werden. Deshalb wird hierfür, wo eine rhesustypengleiche Frischblutübertragung nicht möglich ist, bis jetzt zu drei Teilen Heparinblut und nur zu zwei Teilen Citratblut verwendet.

Es ist also unschwer einzusehen,daß bei großen Transfusionsmengen ein Blut mit so hohem Kaliumgehalt wie unse-

re K-Mg-Asp.-Konserve nicht, oder jedenfalls nicht ausschließlich zur Anwendung kommen kann.
Schon bei einem Serumkaliumspiegel ab 6,5 mVal/l kommt es zu Störungen des neuromuskulären Systems, wobei in erster Linie das Myokard betroffen wird. Werte von 9-1o mVal/l wirken bereits letal (Arhythmie,Schenkelblock, Kammerflimmern). Das Risiko, beim Empfänger eine schwere Hyperkaliämie auszulösen, stellt sich somit als zu groß dar.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit sollte ein neuer, mit Kalium-Magnesium-Aspartat versetzter Stabilisator im Vergleich zur herkömmlichen Blutkonservierung mit ACD-Lösung erprobt werden.

Spezieller Gegenstand unserer Untersuchung waren dabei die Auswirkungen auf den Kohlenhydratstoffwechsel, den Elektrolythaushalt, sowie die Zellintegrität des konservierten Blutes.
Zur Objektivierung dieser Thematik wurden die Parameter Glucose, Fructose-1,6-Diphosphat (FDP), Dihydroxyacetonphosphat (DAP), Glycerinaldehyd-3-Phosphat (GAP), pH-Wert, Hämoglobin und Hämatokrit, sowie die Elektrolyte Kalium und Natrium herangezogen.
Sie wurden jeweils am 1. , 3. , 7. , und 21. Tag nach Einbringen des Blutes in die entsprechende Stabilisatorlösung bestimmt.

Dabei ergibt sich bezüglich des Kohlenhydratstoffwechsels für die K-Mg-Aspartat-Konservierung eine eindeutig höhere Glykolyserate als in der ACD-Konserve.
Dies äußert sich auf mehrfache Weise:

1.) In einem höheren und kontinuierlichen Glucoseverbrauch.
2.) In einem nachweisbaren, in der ersten Woche ansteigenden, dann bis zum Ende der dritten Woche wieder abfallenden Gehalt an FDP und DAP.
3.) (Nach K.Schmid(72a))
In einer gesteigerten Pyruvat- und Lactat-Bildung, sowie in einem erhöhten ATP-Gewinn.

Der pH-Wert liegt über den gesamten Lagerungszeitraum signifikant höher, und wesentlich näher am physiologischen Normbereich als bei ACD-Konservierung.

Hb und Hk bleiben während der dreiwöchentlichen Konservierungszeit praktisch konstant. Es ließ sich keine zunehmende Hämolyse feststellen.

Was den Elektrolythaushalt betrifft, so zeigt sich, im Gegensatz zu den obigen Punkten, für den K-Mg-Aspartat-Stabilisator keine eindeutige Überlegenheit gegenüber der ACD-Lösung, obwohl der gefürchtete Kaliumefflux aus den Zellen während der Lagerung um vergleichsweise 35% vermindert werden konnte.
Auch dieNatriumbilanz sieht bei unserer Konservierung günstiger aus als im ACD-Blut, da die extra-intrazelluläre Natrium-Verschiebung hier nur rund halb so hoch ist wie dort.
Dafür muß bei der K-Mg-Asp.-Konservierung jedoch ein anderer Nachteil in Kauf genommen werden, und zwar in Form einer sehr hohen absoluten Serumkaliumkonzentration. DerKaliumgehalt von um 45 mVal/l beschränkt die Anwendungsmöglichkeiten einer solchen Blutkonserve auf einen relativ kleinen Bereich, unter Ausschluß aller Fälle, die dadurch eventuell mit einem Risiko belastet werden könnten.

Zu überlegen wäre, ob man nicht durch Aufarbeitung von in K-Mg-Aspartat-Lösung konserviertem Blut Erythrozytenkonzentrat gewinnen und in der Transfusion einsetzen sollte. Dadurch könnte man von den positiven Auswirkungen des K-Mg-Asp.-Komplexes profitieren, während der negative Aspekt, der durch das hohe Serumkalium zustandekommt, ausgeschaltet wäre.

TABELLARISCHER ANHANG

1.) Glucose in mMol/l bei ACD-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	1o,48	1o,11	13,o4	8,2o
2	9,76	9,68	12,9o	7,89
3	1o,63	9,62	12,87	8,11
4	1o,29	1o,79	13,97	9,24
5	1o,98	1o,21	13,79	9,6o
6	1o,77	9,59	12,93	8,59
7	11,33	9,33	1o,19	1o,5o
8	1o,o4	14,25	9,59	7,84
9	9,73	9,73	9,45	8,64
1o	1o,17	9,91	8,35	7,43
11	1o,46	9,79	8,87	7,19
12	1o,81	1o,5o	9,89	8,35
13	1o,83	11,32	1o,59	7,64
14	1o,7o	1o,23	11,12	8,93
15	9,98	1o,12	1o,86	8,69
16	1o,94	11,54	1o,21	8,oo
17	11,32	1o,43	1o,21	8,39
18	1o,95	11,32	1o,71	8,44
19	11,6o	12,71	11,85	8,96
2o	11,15	12,52	11,37	8,56
21	12,5o	12,5o	11,19	11,18
22	11,98	12,89	11,18	1o,47
23	12,26	14,11	12,48	9,89
24	11,21	12,79	11,o2	8,77
$\bar{x}$	1o,86	11,o8	11,2o	8,75
s	o,72	1,49	1,52	1,oo

2.) Glucose in mMol/l bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	9,66	9,49	9,36	6,37
2	1o,49	9,59	8,71	4,61
3	1o,o5	8,88	7,34	5,45
4	9,55	9,28	7,94	4,92
5	9,66	1o,o9	7,34	5,o3
6	9,66	9,49	8,oo	5,13
7	11,52	1o,13	8,54	5,13
8	1o,o5	9,61	7,36	3,75
9	1o,1o	8,43	7,58	5.o3
1o	1o,16	8,54	7,o4	4,71
11	1o,6o	8,97	7,2ϐ	4,61
12	11,94	8,97	8,11	4,61
13	9,61	8,74	7,33	5,o3
14	1o,25	8,94	7,75	5,o4
15	9,71	8,22	7,64	4,83
16	11,95	9,46	7,33	4,oo
17	1o,67	8,84	7,85	5,45
18	1o,25	8,63	8,17	5,34
19	9,66	7,77	5,76	4,93
2o	1o,48	9,38	7,91	3,63
21	11,72	9,48	7,3o	4,74
22	1o,28	1o,49	6,99	5,15
23	9,87	8,88	7,81	4,74
24	1o,o7	8,88	6,37	5,35
$\bar{x}$	1o,33	9,13	8,o2	4,9o
s	o.74	o,63	1,83	o,57

3.) Fructose-1,6-Diphosphat in nMol/ml bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	35,38	5o,54	58,12	2,53
2	42,96	65,7o	78,33	-
3	37,91	63,18	55,59	2,53
4	37,91	55,59	6o,65	-
5	37,91	53,o7	65,7o	-
6	25,27	5o,54	7o,76	2,53
7	32,85	55,59	83,39	-
8	42,96	63,18	63,18	-
9	4o,43	37,91	6o,65	-
1o	3o,32	25,27	65,7o	-
11	25,27	15,16	63,18	-
12	45,94	27,78	83,39	2,53
13	55,59	73,28	9o,97	7,58
14	55,59	5o,54	88,45	-
15	32,85	63,18	1o1,o8	-
16	5o,54	58,12	75,81	1o,11
17	37,91	83,39	63,18	2,53
18	58,12	37,91	65,7o	2,35
19	4o,43	55,59	48,o1	-
2o	68,23	58,12	75,81	-
21	58,12	58,12	75,81	-
22	6o,65	63,18	75,81	-
23	68,23	55,59	73,28	-
24	-	35,38	5o,54	-
$\bar{x}$	44,39	52,33	7o,86	4,11
s	12,7o	15,64	13,24	3,o

4.) Dihydrxyacetonphosphat in nMol/ml bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	-	261,o1	14o,56	175,71
2	145,o6	16o,24	93,3o	-
3	185,14	13o,12	45,52	7o,28
4	14o,16	14o,16	115,o8	5o,2o
5	185,14	185,34	75,46	5o,2o
6	145,o6	14o,16	67,3o	5,o2
7	175,o8	125,1o	85,14	6o,24
8	14o,21	87,19	125,5o	35,14
9	185,76	176,57	9o,36	35,14
1o	185,o2	15o,37	13o,52	6o,24
11	185,68	181,81	165,67	65,26
12	185,o1	175,3o	18o,73	95,38
13	15o,6o	155,73	55,22	75,3o
14	115,46	16o,65	75,3o	7o,28
15	155,62	12o,48	55,22	-
16	175,71	95,38	135,54	85,34
17	135,34	251,oo	15,o6	65,26
18	15o,5o	18o,73	85,34	85,34
19	185,75	261,o5	12o,48	25,1o
2o	21o,85	16o,65	75,3o	35,14
21	8o,52	125,5o	11o,44	-
22	85,oo	16o,65	6o,24	-
23	34,oo	8o,32	7o,28	4o,16
24	225,91	115,46	1oo,4o	45,18
$\bar{x}$	154,9o	157,57	94,74	61,5o
s	44,29	48,49	39,31	35,oo

5.) pH-Wert bei ACD-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	-	8,1	-	6,8
2	-	8,1	-	6,8
3	-	8,3	-	6,8
4	-	8,1	-	6,8
5	-	8,2	8,1	6,8
6	-	7,8	-	6,8
7	-	7,7	-	6,9
8	-	7,4	-	6,9
9	-	7,6	-	7,o
1o	-	7,8	-	7,o
11	-	7,8	-	7,o
12	-	7,7	-	7,o
13	-	7,1	7,o	6,9
14	-	7,1	7,o	7,o
15	-	7,o	6,9	6,9
16	-	7,1	7,o	7,o
17	-	6,9	6,9	6,9
18	-	6,9	6,9	7,o
19	7,2	7,o	7,1	7,1
2o	7,2	7,o	7,2	7,1
21	7,1	7,o	7,2	7,o
22	7,1	7,o	7,2	7,1
23	7,o	6,9	7,o	6,9
24	7,1	7,1	7,1	7,o
$\bar{x}$	7,1	7,4	7,o	6,9
s	o,o6	o,49	o,12	o,11

6.) pH-Wert bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	7,6	7,5	7,4	7,2
2	7,6	7,4	7,5	7,1
3	7,7	7,6	7,4	7,2
4	7,7	7,5	7,6	7,2
5	7,6	7,5	7,5	7,2
6	7,7	7,7	7,5	7,1
7	7,5	7,6	7,5	7,1
8	7,5	7,5	7,6	7,1
9	7,7	7,7	7,6	7,2
1o	7,7	7,5	7,6	7,2
11	7,6	7,5	7,6	7,2
12	7,8	7,4	7,5	7,1
13	7,5	7,6	7,4	7,2
14	7,6	7,6	7,4	7,2
15	7,5	7,5	7,4	7,2
16	7,6	7,6	7,4	7,2
17	7,5	7,5	7,3	7,1
18	7,6	7,5	7,3	7,2
19	7,6	7,5	7,3	7,3
2o	7,5	7,6	7,6	7,3
21	7,5	7,6	7,5	7,2
22	7,5	7,5	7,6	7,3
23	7,6	7,6	7,5	7,2
24	7,5	7,5	7,6	7,3
$\bar{x}$	7,6	7,5	7,5	7,2
s	o,o9	o,o8	o,11	o,o7

7.) Hämoglobin in g% bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	sofort	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	15,7	12,8	12,4	11,7	12,1
2	14,9	11,2	12,1	11,7	11,8
3	15,4	12,2	11,7	12,o	12,6
4	15,o	12,4	11,7	12,o	12,6
5	11,6	9,2	1o,9	1o,6	1o,9
6	13,6	1o,8	9,o	9,1	8,9
7	15,6	12,5	13,8	12,5	12,4
8	13,6	1o,9	11,2	11,3	1o,4
9	13,6	11,4	1o,9	11,2	1o,7
1o	14,2	11,2	11,5	11,1	1o,8
11	15,1	12,1	12,9	12,1	11,6
12	12,o	9,2	9,9	9,9	9,2
13	14,8	11,8	11,4	11,4	11,2
14	14,4	11,2	11,1	1o,9	11,2
15	13,2	1o,2	11,o	1o,4	1o,o
16	13,8	11,4	1o,8	11,4	1o,8
17	11,4	9,o	8,o	8,6	8,9
18	13,3	1o,1	1o,3	1o,3	1o,6
19	16,6	13,3	13,2	13,1	13,6
2o	15,3	12,2	12,o	12,o	11,8
21	14,7	11,2	11,o	11,5	11,7
22	15,6	11,8	12,o	12,2	12,6
23	13,1	1o,3	1o,1	1o,3	1o,7
24	15,1	11,3	12,o	11,7	11,7
$\bar{x}$	14,2	11,2	11,3	11,2	11,2
s	1,4	1,4	1,3	1,1	1,2

8.) Hämatokrit in % bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	sofort	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	43	36	37	32	34
2	41	31	33	32	34
3	41	35	33	32	35
4	4o	35	33	31	33
5	32	26	29	29	31
6	37	3o	25	24	25
7	44	35	36	34	36
8	39	3o	3o	31	3o
9	39	31	29	3o	3o
1o	38	3o	3o	3o	31
11	42	33	34	34	34
12	34	26	27	28	27
13	4o	32	31	29	31
14	4o	31	3o	29	33
15	37	28	29	28	28
16	4o	32	29	29	31
17	34	27	23	23	25
18	38	29	27	27	3o
19	46	37	35	35	37
2o	44	34	32	33	33
21	42	33	3o	31	33
22	44	33	32	32	35
23	37	29	28	28	3o
24	42	31	33	33	33
$\bar{x}$	4o	31	31	3o	32
s	3,5	3,1	3,4	3,o	3,2

9.) Kalium in mVal/l bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	41,1	44,5	56,1	57,9
2	39,9	4o,3	49,8	52,5
3	38,1	38,7	52,o	52,3
4	38,8	41,3	52,9	53,7
5	39,2	42,2	49,4	51,7
6	36,o	37,o	48,5	49,6
7	45,2	5o,6	59,o	57,3
8	37,9	49,5	51,2	51,1
9	49,2	46,9	57,o	5o,6
1o	37,9	43,5	47,6	46,9
11	4o,8	46,5	51,3	51,o
12	4o,3	44,2	48,5	46,o
13	4o,8	46,4	46,1	52,o
14	4o,6	43,3	51,3	46,o
15	41,2	48,8	55,o	48,o
16	45,8	47,2	52,8	49,o
17	4o,1	4o,7	44,3	44,o
18	4o,2	44,4	5o,9	48,o
19	41,1	49,8	55,9	59,7
2o	4o,3	51,2	5o,7	55,o
21	41,7	47,5	51,3	53,o
22	39,7	55,5	52,4	54,o
23	35,8	43,9	42,6	49,1
24	38,6	42,5	45,7	52,3
$\bar{x}$	4o,4	45,3	5o,9	51,3
s	3,o	4,4	4,o	3,9

1o.) Natrium in mVal/l bei K-Mg-Asp.-Konservierung:

Nr.	1. Tag	3. Tag	7. Tag	21. Tag
1	12o	116	112	113
2	117	113	111	111
3	118	114	111	111
4	118	112	1o9	111
5	116	11o	1o9	111
6	122	118	115	117
7	117	114	1o9	111
8	119	114	1o9	111
9	115	114	11o	113
1o	119	115	113	115
11	119	114	112	113
12	12o	118	115	118
13	125	12o	118	115
14	122	118	117	114
15	121	111	111	111
16	115	11o	1o6	1o7
17	12o	116	114	113
18	119	114	11o	11o
19	119	113	1o9	121
2o	118	11o	1o8	121
21	117	114	1o9	12o
22	118	112	1o8	121
23	122	115	111	122
24	12o	117	113	122
$\bar{x}$	119	114	111	115
s	2,4	2,7	3,o	4,5

LITERATURVERZEICHNIS

1.) Achilles,W. and G.A.Cumme
Complex Formation on Glycolytic Metabolites with Mg^{2+},K^{+},and Na^{+}, and the possible Complex Equilibrium Distribution in human Erythrocytes.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973, S.317-319.

2.) Äkerblom,O. and K.Andreasson
Biochemical Variables Influencing the Storage Ability of Erythrocytes at $4^{o}C$.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin1973, S.457-46o.

3.) Atkinson,D.E.
Annu. Rev. Biochem.35, 85,1966

4.) Bartlett,G.R. et al.
Erythrocyte Carbohydrate Metabolism.
J. Lab. Clin. Med. 42, S.178-187, 1953

5.) Baue,A.E. et al.
A Study of Bank Blood Toxicity.
Surg. Gyn. and Obst. 113, S.4o-45, 1961

6.) Benesch,R. und R.E.Benesch
Oxygenation and Ion Transport in Red Cells
Science 16o, S.83-87, 1968

7.) Benesch,R.E. et al.
The Oxygenation of Haemoglobin in the Presence of 2,3-Diphosphoglycerate. Effect of Temperature, pH, Ionic Strength and Haemoglobin Concentration.
Biochem.8, S.2567-2571, 1969

8.) Brewer,G.J.
Monographie "The Red Blood Cells",I,Chapter9
Edited by N.Surgenon, Academic Press.

9.) Brosi,U.
Beeinflußbarkeit der Lagerung von Blutkonserven durch K-Mg-Aspartat.
Inaugural Dissertation, Tübingen 1977

1o.) Buc-Temkine,A.
Allosteric Properties of Human Erythrocyte Pyruvate-Kinase.
VII .Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

11.) Buddecke,E.
Grundriss der Biochemie
W.De Gruyter-Verlag, Berlin 1973

12.) Bunn,H.F.
Haemoglobin Function of Stored Blood
J. Clin. Invest.48, S.311.

13.) Busch,H.
Die Bedeutung des Stabilisators für die Stoffwechselvorgänge des Erythrozyten unter besonderer Berücksichtigung der Elektrolytverschiebung.
Bibl. Hämat.11, 196o

14.) Carstensen,E.
1.Deutsches Elektrolytsymposium, Kassel1957

15.) Clauss-Ebner
Grundlagen der Statistik
Verlag Harri Deutsch,Frankf./Main,1971

16.) Crawford,H. and P.L.Mollison
Reversal of Electrolyte Change in Stored Red Cells after Transfusion.
J.Physiol.129, S.639-647, 1955

17.) Dawson,R.B. et al.
Haemoglobin Function and 2,3-DPG Levels of Blood Stored at 4°C in ACD and CPD, pH-Effect.
Transf.1o, S.299-3o4, 197o

18.) Dawson,R.B.
Haemoglobin Function in Stored Blood
Blut,XXIV, S.78-82, 1972

19.) Doktorandenkollektiv Berlin 196o/61
Das Verhalten von Enzymen und Substraten bei der Konservierung von Blut in verschiedenen Medien.
Fol.Hämat. 78, Heft3, 1962

2o.) Dudziak,R. et al.
Vergleich der Wirkung von Kaliumchlorid und K-Mg-Aspartat nach Anoxie.
Kalium-Magnesium-Aspartat. Kolloquium am 26.April in Düsseldorf, Schattauer-Verlag 1969

2oa) Ebel,H. und Th.Günther
Über die Mg-Aufnahme in Erythrozyten und Ascites-Tumorzellen.
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem. 6.Jg.Heft1, 1969

21.) Enzymes,the, Vol.VIII,
7. Phosphofructokinase
Edited by P.D.Boyer
Academic Press New York-London, 1973

22.) Fischer,H.
Überlegungen zur verbesserten Konservierung von Erythrozyten.
Fol. Hämat.78, Heft3, 1962

23.) Garner,P.S. and Th.Rosett
The Influence of Mg^{2+}Nucleotide Rations and Absolute Concentration of Mg^{2+}-Adenine Nucleotide on the Observed Velocity of Some Kinase Reactions.
FEBS Letters, Vol.34, No.2

24.) Gerber,G. et al.
A Kinetic Model of the Hexokinase of the Human Erythrocytes and its Application to the Cell.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

25.) Gerber,G. et al.
Mathematical Analysis of the Influence of ATP and Mg^{2+}-Ions on the PFK of Erythrocytes.
Vii.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

26.) Gerber,G. and R.Elsner
Über die regulatorische Rolle der Hexokinase in roten Blutzellen.
Fol.Hämat.89, Heft4, 1968

27.) Gibson,J.G. et al.
The Influence of Extracellular Factors Involved in the Collection of Blood in ACD on Maintenance of Red Cell Viability during Refrigerated Blood Storage.
Am.J.Clin.Path.26, S.855-862, 1956

28.) Gibson,J.G. et al.
The Post-Transfusion Survival of Preserved Human Erythrocytes Stored as Whole Blood or in Remeans of Two Isotopes of Radioactive Iron.
J.of Clin.Invest. Vol.26, No.4, 1947

29.) Golden,G. and R.Shields
The Maintenance of pH in Stored Blood
J.Med.2, S.395-397, 1971

3o.) Greff,K.
Kalium und Digitalistoxizität, aus: Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium am 26. April in Düsseldorf, Schattauerverlag 1969

31.) Grobecker,H. und U.Piechowski
Ionengehalt, Ionentransport und Membran-ATPase der Erythrozyten in Blutkonserven.
Z.klin.Chem.4, S.126-129, 1966

32.)Haradin,A.R. et al.
Changes in Physical Properties of Stored Erythrocytes-Relationship to Survival in Vivo.
Transfusion,Vol.9, No.5, 1969

33.) Hasart,E. und H.Roigas
Temperaturabhängigkeit der Glykolyse
Fol.Hämat.89, Heft4, 1968

34.) Heinitz,M.
Neuere klinische Gesichtspunkte zur metabolischen Wirksamkeit von Metallchelaten.
9.Kolloquium über Kalium-Magnesium-Aspartat, Herausg.: K.Hutschenreuter; verlegt bei Dr.Franz Köhler Chemie, Alsbach, Bergstraße.

35.) Heller,W., H.Junger und R.Brückner
Wechselwirkungen von K-Mg-Asp. auf den Kohlenhydratstoffwechsel während der Allgemeinanästhesie.
15.Kolloquium über K-Mg-Asp.,Frankfurt,herausgeg. von Kronschwitz,H.,Prof.Dr.med.,St.Markus-Krankenhaus, 6 Frankfurt/M.

36.) Hirsch,J.,Rapoport et al.
The Time Course of Concentration Changes of Glycolytic Intermediates in Human Erythrocytes Induced by pH-Transition.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

37.) Howland,W.S. et al.
Massive Blood Replacement. V.Failure to Observe Citrate Intoxication.
Surg.Gyn. and Obst.121, S.777-782, 1965

38.) Huisman,T.H.J. et al.
Oxygene Equilibra and Biochemical of Whole Blood Stored in Different Preservation Media.
Transf.9, S.18o-19o, 1969

39.) Hurn,B.A.L.
Storage of Blood
Academic Press, London-New York, 1968

4o.) Jacobasch,G. et al.
Glycolysis of Erythrocytes
Monographie "Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes"
Univ.Pr., Tokyo, 1974

41.) Jacobasch,G. et al.
Regulierung der Glykolyse roter Blutzellen im Magnesiummangel.
Acta Biol.Med.Germ.13, S.683-692, 1964

42.) Jacobasch,G.
Einfluß des Phosphat und des Magnesium auf die Regulierung der Glykolyse.
Fol.Hämat.89,Heft4, 1968

43.) Junger,H.
Habilitationsschrift an der Eberh.-Karls-Univ.-Tübingen 1974, aus dem Zentralinstitut für Anästhesiologie der Univ. Tübingen.

44.) Kanzinets,G. et al.
The Effect of Storing Time on the Cellular Composition and Mitotic Activity of the Peripherial Blood Cells.
11thCongress of the International Society of Blood Transf.Part3, S.73, 1966

45.) Keidel,W.D.
Kurzgefasstes Lehrbuch der Physiologie
Thieme-Verlag Stuttgart, 1973

46.) Kipnis,D.M. and C.F.Cori
JBC 235, 3o7o, 196o

47.) Kläger,G.
Unters.über die Wirkung des Mg-Asp.-ACD-Stabilis. auf den KH-Stoffw.und die Sauerst.-Transp.-Funkt. von Blutkonserven.
Inaugural Dissertetion Tübingen 1978

48.) Kontos,J.S. et al.
Die Veränderungen der Sauerstofftransportfunktion und des Säure-Basen-Status von unterschiedlich stabilisiertem Konservenblut.
Klin.Wschr.Jg.45, Heft23,1967

49.) Kühn,E. et al.
Influence of effectors of the PFK of Erythrocytes of Rats.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

5o.)Leonard,M.
Human Pyruvate-Kinase-Role of the Divalent Cation in the Catalytic Mechanism of the Red Cell Enzymes
Biochem. Vol.11, S.44o7-4414, 1972

51.) Löhr,G.W. und H.D.Waller
Zur Biochemie der Erythrozytenalterung
Fol.Hämat.78, Heft3,196o

52.) Lowry,O.H. and J.v.Passonneau
Kinetic Evidence for Multiple Binding Sites on Phosphofructokinase.
j.of Biol.Chem.Vol.241, No.1o, S.2268-2279, 1966

53.) Mansour,T.E.
Curr.Top.Cell., Reg.5, 1, 1972

54.) Matthes,M. et al.
Untersuchungen über Schädigungen von Blutkonserven durch Veränderungen der Temperatur während der Lagerung und des Transports von Blutkonserven
Med. Welt 1o, S.49o-494, 1964

55.) Minakami,S. et al.
Changes of Glykolytic Intermediates of Ervthrocytes during Storage in ACD-Medium.
Fol.Hämat.91, S.115ff., 1969

56.) Minakami,S. et al.
Acceleration of Red Cell Glycolysis by Citrate due to the Elevation of Intracellular pH.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

57.) Mollison,P.L.
Blood Trasfusion in Clinical Medicine
Blackwell Scientific Publications, 5th Edition,1972

58.) München,I.
Aspartate; Zur klin. Bedeutung von Inzolen
Dr.Franz Köhler Chemie, Alsbach, Bergstraße

59.) Nakahara,M. et al.
Die Effekte von Kalium-Magnesium-Asparaginat auf die zelluläre Erschöpfung der Skelettmuskulatur und ihr Mechanismus.
Arz.Forschg. 14, S.1191-1198, 1964

6o.) Nakao,M.
Effect of Inosine and Adenine on ATP Regeneration and Shape Transformation in Long-Stored Erythrocytes.
Biochem.Biophys. Acta32, S.564-566,1959

61.) Newsholme,E.A. et al.
Nature, London, 193,27o, 1962

62.) Newsholme,E.A. and P.J.Randle
BJ 8o, S.655, 1961

63.) Ockel,S. et al
Die pH-Abhängigkeit der anaeroben Glykolyse und der Hexokinase.
Fol. Hämat.78, Heft3, 1962

64.) Parmeggiani,A. and R.H.Bowman
BBRC 12, S.268, 1963

65.) Raderecht,H.J.
Stoffwechsel der Blutzellen
Fol. Hämat.93, Heft3, 197o

66.) Randle,P.J. et al.
Recent Progr. Horm. Res. 22, 1, 1966

67.) Rapoport,S.
Red Cell Metabolism
11th Congress of the International Society of Blood Transf. Part 1, S.133, 1966

68.) Rapoport,S. et al.
Reifungs- und Alterungsvorgänge in Erythrozyten
Fol. Hämat.78, Heft3, 196o

69.) Ring,K. et al.
Wechselwirkungen zwischen L-Aspartat und Kalium-Ionen beim Transport in lebende Zellen.
15. Kolloquium in Frankfurt,Herausg. Kronschwitz, H., Prof.Dr. med., St. Markus-Krankenhaus,Frankf.

7o.) Riordan,O.J.P.
Scientific Advances in Transfusion
J.Irish Med.Ass. 66, S.27-36, 1973

7oa) Rittmeyer,P. und H.Niepmann
Zur Problematik der Elektrolyttherapie bei schweren Verbrennungen, aus: Kalium-Magnesium-Aspartat Kolloquium am 26. April in Düsseldorf;
Schattauer-Verlag

71.) Ross,J.F.
The In Vivo Preservation and Post Transfusion Survival of Stored Blood.
J.of Clin.Invest.Vol. 26, No.4, 1947

72.) Schaible,H.G.
Stoffwechseluntersuchungen in konserviertem Vollblut unter Zusatz von Mg-Aspartat.
Inaugural Dissertation Tübingen, 1977

73.) Schmid,K.
Zur Beeinflußbarkeit der Lagerungsfähigkeit von Konservenblut durch K-Mg-Asp. - Ein Beitrag zum Kohlenhydratstoffwechsel.
Inaugural Dissertation, Tübingen 1978

74.) Seidl,S. und W.Spielmann
Modern Problems of Blood Preservation; Edited by S.Seidl and W.Spielmann;
Gustav-Fischer-Verlag Stuttgart, 197o

75.) Siegenthaler,W.
Klinische Pathophysiologie
Thieme-Verlag Stuttgart 1973

76.) Sommerkamp,H.
Untersuchungen an Blutkonserven; Blutgase und Elektrolyte.
Klin.Wschr. Jg.4o, Heft 6,1962

77.) Stadtmann,E.R.
Advan. Enzymol. 28,41, 1966

78.) Staib,J. und M.Kretzschmar
Messung der Elektrolytkonzentrationen in Versch. Gewebearten der Ratte nach Verabreichung von K-Mg-Aspartat.
Arz.Forschg.18, S.342-347, 1968

79.) Straus,D.et al.
The Influence of pH Variations and Additives on the 2,3-DPG-Level in Stored Erythrocytes.
VII.Int.Symp. über Struktur und Funktion der Erythrozyten, Berlin 1973

8o.) Struck,E. und F.Sebening
Störungen des Kalium-Natrium-Stoffwechsels durch extrakorporale Zirkulation.
Kalium-Magnesium-Aspartat, Kolloquium am 26.April in Düsseldorf, 1968, Schattauer-Verlag

81.) Strumia,M. et al.
Effect of Adenine and Inosine on the ATP and Viability of Red Cells of Blood Stored at 1°C.
J.Lab.Clin.Med. 75, 244, S.9o7, 197o

82.) Syllm-Rapoport et al.
Glykolyse von Erythrozyten bei Magnesiummangel
Fol.Hämat.78, heft3, 1962

83.) Underwood,A.H. and E.A.Newsholme
BJ 1o4, 3oo, 1967

84.) Verdier,C.H.and L.Garby
Blood Preservation
Monographie "Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes".
Univ.Press, Tokyo, 1974

85.) Verdier,C.H. et al.
Storage of Human Red Blood Cells
Acta Physiol. Scand. 6o, S.141-149, 1964

86.) Wilke,H. et al.
Untersuchungen zum Kationentransport am isolierten Darm des Meerschweinchens.
15.Kolloquium in Frankfurt, Herausg. Kronschwitz, H.,Prof.Dr.med. am St.Markus-Krankenhaus Frankf., 1975.

87.) Willenegger,H.
Historisches und Grundsätzliches zur Frage des idealen Stabilisators.
Bibl. Hämat.11, 4-15, 196o

88.) Yates,R.A. and A.B.Pardee
JBC 221,757, 1956

89.) Yoshikawa,H. et al.
Shape Transformation of Erythrocyte Ghosts on Addition of ATP to the Medium.
J.Biochem.47, S.694-695, 196o

9o.) Yoshikawa,H. and S.Minakami
Regulation of Glycolysis in Red Cells
Fol.Hämat.89, S.357-373, 1968

LEBENSLAUF

Am 25.10.1951 wurde ich, Ines Özfirat-Schmidt geb.Schmidt, als Tochter des damaligen Studienassessors Josef Schmidt und seiner Ehefrau Ingeborg, geb. Hagmayer in Backnang geboren.

Ein paar Monate später zogen meine Eltern nach Stuttgart-Untertürkheim und im Jahre 1956 nach Schwäbisch-Gmünd. Dort besuchte ich von 1959 bis 1961 die Grundschule. 1962 zogen wir nach Reutlingen um, wo ich in die vierte Klasse der freien Georgenschule eintrat und fünf Jahre zur Schule ging. 1967 wechselte ich in die achte Klasse des Friedrich-List-Gymnasiums Reutlingen über und legte dort am 26.6.1972 die Reifeprüfung ab.

Im WS 1972/73 immatrikulierte ich mich an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen für das Fach Psychologie und nahm im SS 73 in Doppelimmatrikulation das Fach Humanmedizin dazu. Nach vier Semestern Parallelstudium exmatrikulierte ich mich nach dem WS 74/75 im Fach Psychologie und legte im März 1975 die ärztliche Vorprüfung ab.

Im September 1975 habe ich geheiratet und im Januar 1977 wurde meine Tochter geboren.

Im März 1976 bestand ich den ersten und im März 1978 den zweiten Teil der ärztlichen Prüfung. Das Praktische Jahr absolvierte ich am Kreiskrankenhaus Reutlingen. Im April 1979 legte ich den schriftlichen und im Mai 1979 den mündlichen Abschnitt des dritten Teils der ärztlichen Prüfung ab und bestand damit am 4.Mai 1979 das medizinische Staatsexamen.